

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092850 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.06.17(22) Дата подачи заявки
2019.07.10(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С VISTA ПРИ КИСЛОМ pH

(31) 62/696,622; 62/733,450; 62/826,330

(32) 2018.07.11; 2018.09.19; 2019.03.29

(33) US

(86) PCT/US2019/041154

(87) WO 2020/014327 2020.01.16

(88) 2020.02.27

(71) Заявитель:

ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК.; БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

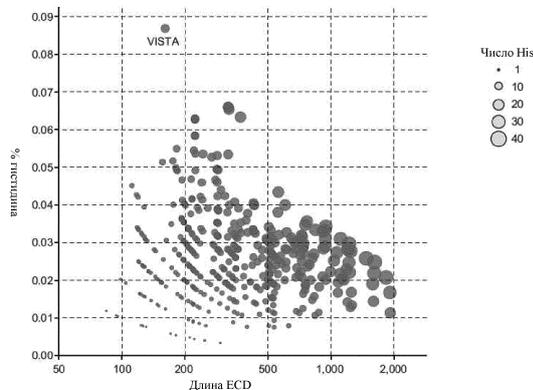
(72) Изобретатель:

Джонстон Роберт Дж., Раджпал
Арвинд, Шеппард Пол О., Боргес
Луис, Рэнкин Эндрю, Бахджат
Кейт Садун, Корман Алан Дж.,
Ден Сяоди, Су Линь Хой, Рэйкстро
Джинджер, Пинкни Джейсон Р.,
Криттон Дэвид А., Чэнь Годун, Хуанг
Ричард Й., Деянова Екатерина Г.,
Куигли Майкл, Лемар Хадиа, Найим
Акбар (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Лебедев В.В., Костюшенкова М.Ю.,
Парамонова К.В., Джермакян Р.В.
(RU)

(57) Настоящая заявка относится к антителам, специфически связывающимся с содержащим V-домен иммуноглобулина супрессором активации Т-клеток (VISTA) при кислом pH, и их применению в лечении рака. В некоторых вариантах осуществления антитела специфически связываются с VISTA человека при кислом pH, но не связываются значительно с VISTA человека при нейтральном или физиологическом pH.



A1

202092850

202092850

A1

Антитела, связывающиеся с VISTA при кислом

pH

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящая заявка относится к антителам, специфически связывающимся с содержащим V-домен иммуноглобулина супрессором T-клеточной активации (VISTA) при кислом pH, и их применению в лечении рака.

Предпосылки создания изобретения и краткое описание изобретения

Содержащий V-домен иммуноглобулина супрессор T-клеточной активации или VISTA является коингибиторным членом семейства B7 иммунорецепторов, экспрессируемых миеломоноцитарными клетками и другими лейкоцитами. Однако механизм, с помощью которого VISTA подавляет иммунные ответы, плохо изучен.

Авторы изобретения обнаружили, что в отличие от других известных иммунорецепторов, VISTA взаимодействует со своими контррецепторами и функционирует селективно при кислом pH, с малой активностью при физиологическом pH (например, 7,3-7,4). Таким образом, VISTA может подавлять иммунные ответы в кислых микросредах, таких как ложе опухоли или участки воспаления, не влияя на клетки, циркулирующие в крови или находящиеся в невоспаленных, некислотных тканях. Кроме того, авторы изобретения обнаружили, что антитела против VISTA могут быть сконструированы для селективного связывания с VISTA при кислом pH, с незначительным связыванием или отсутствием связывания при физиологическом pH, отражая собственную селективность VISTA в отношении кислого pH. Эти селективные в отношении кислого pH антитела могут предложить желательные свойства для лечения заболеваний, таких как рак, по сравнению с антителами, которые связываются с VISTA при физиологическом pH.

Настоящее раскрытие касается антител, которые специфически связываются с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, таким как человеческий VISTA («hVISTA» или «huVISTA»), при кислом pH (например, в кислых условиях). Настоящее раскрытие также касается антител, которые специфически связываются с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, таким как hVISTA, при кислом pH, с незначительным связыванием или отсутствием связывания при нейтральном или физиологическом pH. Авторы изобретения отмечают в настоящем документе, что аминокислотная последовательность hVISTA-ECD включает ряд консервативных, а также неконсервативных остатков гистидина, и что частота остатков гистидина в ECD VISTA

исключительно высока по сравнению с другими членами семейства V7 и другими членами суперсемейства иммуноглобулинов. (См. фигуры 1A и 1B.) В растворе аминокислота гистидин имеет pK_a около 6,5, что означает, что при pH 6,5 или ниже остатки гистидина в пределах белков часто протонированы и, таким образом, заряжены положительно, тогда как при pH выше 6,5 они становятся все более непротонированными и нейтральными по заряду. Микроокружение опухоли и воспаленные ткани часто бывают кислыми, и, таким образом, белки VISTA, обнаруженные в этих средах, могут быть по меньшей мере частично протонированы по своим остаткам гистидина. Авторы изобретения, как обсуждается в настоящем документе, предположили, что протонирование гистидина может влиять на конформацию, структуру поверхности и/или плотность заряда VISTA, что, в свою очередь, может создавать pH-специфические или pH-селективные эпитопы как для взаимодействия(й) рецептор-лиганд, так и связывания антител. Нацеливание на VISTA с помощью антител, которые связываются при кислом pH, но не при нейтральном или физиологическом pH, может предотвращать опосредованное мишенью распределение лекарственного средства через циркулирующие и резидентные в лимфоидном органе миеломоноцитарные клетки, улучшая PK антител, занятость рецепторов и активность в микроокружении опухоли. Селективные в отношении кислого pH антитела могут также улучшать специфичность антител к VISTA в отношении внутриопухолевых, а не циркулирующих клеток-мишеней в случаях терапевтических воздействий, таких как антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC) и доставка полезных нагрузок (конъюгаты антитело-лекарственное средство).

Краткое описание фигур

Цветные версии нескольких фигур в настоящем документе представлены в Патентное ведомство США с подачей приоритетных предварительных заявок США. Предполагается, что после публикации настоящей заявки и после того как предварительные заявки станут общедоступными, Патентное ведомство США предоставит цветные чертежи по запросу и уплаты необходимого сбора.

На **фигурах 1A-C** показано, что внеклеточный домен VISTA содержит исключительно высокую частоту остатков гистидина, что многие из этих остатков гистидина являются консервативными, и что по меньшей мере некоторые из этих остатков гистидина могут участвовать в рецептор-лигандном связывании. На **фигуре**

1A показано графическое изображение белков, содержащих домен иммуноглобулина, при этом число аминокислотных остатков внеклеточного домена для каждого белка отложено по оси x, и частота остатков гистидина в пределах внеклеточного домена для каждого белка отложена по оси y. Размер каждой точки данных соответствует общему количеству остатков гистидина в каждом внеклеточном домене белка. На **фигуре 1B** показаны выровненные аминокислотные последовательности внеклеточных доменов VISTA человека, яванского макака и мыши. Отмечены положения последовательностей сигнального пептида (Sig) и трансмембранного домена (TMD). Остатки гистидина, консервативные по всем трем видам, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты; остатки гистидина, консервативные у человека и яванского макака, только выделены жирным шрифтом. На **фигуре 1C** показана модель трехмерной структуры домена иммуноглобулина VISTA человека. Остатки гистидина изображены в виде шаров и палочек.

На **фигуре 2A-B** показана модель, в которой остатки гистидина во внеклеточном домене VISTA наделяют контррецептор селективностью в отношении кислого pH, а не физиологического pH. На **фигуре 2A** показано равновесие между отсутствием и присутствием протонирования аммониевой группы (NH) пиррола в остатке гистидина. Значение pKa гистидина в растворе составляет 6,5, что указывает на то, что остатки гистидина с большей вероятностью протонируются при pH 6,5 и ниже, и, следовательно, заряжены положительно, чем при более высоком pH. На **фигуре 2B** показана модель, в которой VISTA селективно взаимодействует с гликопротеиновым лигандом 1 Р-селектина (PSGL-1) или другими контррецепторами и лигандами («VISTA-R») при кислом pH. Соответственно, связывание антитела с внеклеточным доменом VISTA при кислом pH, а не физиологическом pH может иметь решающее значение для ингибирования или модулирования активности VISTA.

На **фигуре 3** показан уровень поверхностной экспрессии VISTA (средняя интенсивность флуоресценции (MFI) окрашивания антителом против VISTA) на опухоль-инфильтрирующих макрофагах, дендритных клетках, нейтрофилах, CD4+ эффекторных Т-клетках, CD4+ регуляторных Т-клетках, CD8+ Т-клетках, естественных клетках-киллерах (NK) и В-клетках. VISTA экспрессируется на многих опухоль-инфильтрирующих лейкоцитах, в частности, миелоидных клетках. Микроокружение опухоли часто бывает кислым, что позволяет VISTA взаимодействовать с контррецепторами и лигандами.

На **фигурах 4А-Е** показано, что VISTA селективно связывается с лейкоцитами и с PSGL-1 при кислом рН, с незначительным связыванием или отсутствием связывания при нейтральном рН, и что это связывание может быть заблокировано анти-VISTA антителом. На **фигуре 4А** слева показаны репрезентативные гистограммы связывания флуоресцентно-конъюгированного рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4⁺ Т-клетками человека. Закрашенные гистограммы от темно-серого до более светлого показывают связывание при рН 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 и 6,0. Некоторые гистограммы помечены соответствующим значением рН. Связывание не-VISTA контрольного мультимера при рН 6,0 показано в виде незакрашенной гистограммы. Справа показано среднее значение MFI связывания VISTA (кружки) и контрольного (треугольники) мультимера с активированными CD4⁺ Т-клетками человека от двух доноров при разном рН. На **фигуре 4В** показаны репрезентативные гистограммы связывания рекомбинантного мультимера VISTA с моноклеарными клетками периферической крови (PBMC) при рН 6,0 и рН 7,4. Закрашенные от темно-серого до более светлого гистограммы показывают связывание при рН 6,0 с CD19⁺ В-клетками, CD4⁺ Т-клетками, CD8⁺ Т-клетками, CD56⁺ NK-клетками и CD14⁺ моноцитами. Незакрашенные гистограммы со сплошными и пунктирными границами отражают связывание при рН 7,4 с общими лимфоцитами и моноцитами PBMC, соответственно. На **фигуре 4С** показано репрезентативное связывание рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4⁺ Т-клетками человека в присутствии анти-VISTA блокирующего антитела (квадраты) или не-VISTA-специфического изотипически сходного контрольного антитела (кружки). Концентрации антитела нанесены на логарифмическую шкалу. Также, показаны нелинейные регрессии. Треугольник отображает фоновый сигнал от активированных CD4⁺ Т-клеток человека, которые не были окрашены рекомбинантными мультимерами VISTA. На **фигуре 4D** показаны репрезентативные двумерные графики проточной цитометрии связывания рекомбинантного мультимера VISTA при рН 6,0 с гепарансульфат-дефицитными клетками яичника китайского хомячка (CHO) (линия pGSD-677, Американская коллекция типовых культур), которые были трансфицированы для экспрессии человеческого PSGL-1. Связывание мультимера выполняли в присутствии и в отсутствие анти-VISTA блокирующего антитела, показанного на **фигуре 4С**. Клетки, оставленные неокрашенными рекомбинантными мультимерами VISTA, показаны в качестве контроля. Окрашивание антителом против PSGL-1 нанесено на график по оси у, и окрашивание мультимером VISTA нанесено на

график по оси x. На **фигуре 4E** показаны репрезентативные гистограммы связывания рекомбинантного мышинового слитого белка VISTA-Fc с мышинными спленоцитами при pH 6,0 и pH 7,4. Закрашенные гистограммы от темно-серого до более светлого отображают связывание при pH 6,0 с CD8⁺ Т-клетками, CD11b⁺ миелоидными клетками и CD4⁺ Т-клетками. Незакрашенная гистограмма отображает связывание при pH 7,4 с общими спленоцитами. На **фигурах 4F и G** показаны репрезентативные гистограммы окрашивания мультимером VISTA при pH 6,0 для моноцитов периферической крови человека (фигура 4F) и нейтрофилов (фигура 4G). Клетки, окрашенные при pH 7,4 мультимерами, не содержащими VISTA, или оставленные неокрашенными, включены в качестве контролей.

На **фигурах 5A-D** показано, что VISTA опосредует Т-клеточную супрессию и межклеточную адгезию предпочтительно при кислом pH, и что оба эффекта можно изменить с помощью анти-VISTA блокирующего антитела. На **фигуре 5A** показано образование репрезентативного конъюгата клетка:клетка при pH 6,0 и 7,0 между клетками 293Т, экспрессирующими hVISTA или вектор контроля (нанесено по осям y), и клетками СНО, эндогенно экспрессирующими гепарансульфат клеточной поверхности, по осям x. На **фигуре 5B** показан график частоты клеточных конъюгатов, образованных при pH 6,0 между теми же клетками в присутствии анти-VISTA блокирующего антитела, анти-VISTA неблокирующего антитела или изотипически сходных не-VISTA-специфических контрольных антител. На **фигуре 5C** показаны репрезентативные графики активности люциферазы, генерируемой клетками Jurkat (линия Т-клеток человека), экспрессирующими репортер люциферазы NFκB, после совместного культивирования при различном pH с клетками 293Т, экспрессирующими hVISTA, и одноцепочечным вариабельным фрагментом агонистического антитела против Т-клеточных рецепторов человека ОКТ3 («искусственные антигенпрезентирующие клетки»). К совместно культивированным клеткам добавляли анти-VISTA блокирующее антитело (квадраты) или изотипически сходное не-VISTA-специфическое контрольное антитело (кружки). На **фигуре 5D** данные, показанные на **фигуре 5A**, представлены в виде кратного увеличения сигнала люциферазы при обработке антителом против VISTA относительно контроля («размер эффекта»).

На **фигуре 6A-G** показано, что VISTA может обнаруживаться во внутриклеточных эндосомах, в частности, в Rab11⁺ рециркулирующих эндосомах, и может рециркулировать на поверхность клетки и с нее посредством эндосомальной миграции. На **фигуре 6A** показана совместная локализация VISTA, Rab5 (маркер

ранних эндосом), Rab7 (маркер поздних эндосом) и Rab11 (маркер рециркуляции эндосом) в клетках 293Т, экспрессирующих VISTA человека. На **фигуре 6B** показана совместная локализация VISTA и Rab11 в моноцитах человека. Внутриклеточный VISTA совместно локализован с Rab11+ рециклирующими эндосомами. Контрольное антитело, не связывающееся с VISTA, того же изотипа, что и антитело к VISTA («сAb»), не связывается с моноцитами обнаруживаемым образом. На **фигуре 6C** показано связывание трех антител против VISTA с рекомбинантным VISTA при pH 7,4 (черный), 6,7 (темно-серый) и 6 (светло-серый). На **фигуре 6D** показана подверженность экспрессирующей VISTA линии клеток острого миелоидного лейкоза (AML) уничтожению теми же анти-VISTA антителами 1 (перевернутые треугольники), 2 (круги), 3 (квадраты), или не-VISTA-специфическим контрольным антителом (треугольники), несущим катепсин В-чувствительные линкеры и цитотоксические полезные нагрузки. Жизнеспособность клеток (CellTiter-Glo LU) отложена по оси Y и концентрации антител отложены по оси X. На **фигуре 6E** показано сравнение связывания hVISTA с анти-VISTA антителом 3 со связыванием hVISTA с сконструированным вариантом («VISTA mAb 3с»), который не демонстрирует ослабленного связывания при кислом pH. На **фигуре 6F** показан анализ конъюгата антитело-лекарственное средство, сравнивающий эффективность анти-VISTA антитела 3 (квадраты) и 3с (ромбы). На **фигуре 6G** показана схема миграции эндосом с рециркуляцией VISTA к поверхности клетки и с нее через ранние эндосомы и рециркулирующие эндосомы.

На **фигуре 7A-F** показано, каким образом разрабатывали библиотеки вариантов анти-VISTA антител и подвергали скринингу для получения селективных в отношении кислого pH антител. На **фигуре 7A** показаны аминокислотные замены, сделанные в CDR 3 VH клона P1-061029 (сокращенно '029) антитела против VISTA человека для создания библиотеки '029 для скрининга. Для потенциального улучшения связывания с богатой гистидином областью VISTA при кислом pH, библиотеки обеспечили замены на отрицательно заряженные аминокислоты аспарат и глутамат, а также на pH-чувствительный гистидин. X = H, D или E. Последовательности в квадратных скобках были удалены из синтеза, чтобы избежать введения отрицательных особенностей. В общей сложности синтезировали 647 уникальных последовательностей P1-061029 HCDR3 с 1-2 мутациями. На **фигуре 7B** показана методика, согласно которой библиотеку '029 итерационно подвергали скринингу и отбирали варианты антител, селективные в отношении кислого pH. R обозначает этап отбора. На **фиг. 7C** показаны

репрезентативные данные проточной цитометрии, нанесенные на двумерные графики, показывающие пул вариантов после 9 этапов отбора. Связывание VISTA отложено по оси y, и экспрессия вариантного антитела отложена по оси x. Показаны данные связывания при различных концентрациях антител и pH. На **фигуре 7D** показана диаграмма связывания P1-061029 и его клонов потомства с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4. На **фигуре 7E** показана диаграмма скоростей диссоциации P1-061029 и его клонов потомства от VISTA человека при pH 6,0. На **фигуре 7F** показаны данные по связыванию методом SPR антител P1-068761, P1-068767 и P1-061029 с VISTA человека при pH 6,0 и pH 7,4.

На **фигурах 8A-F** показано селективное в отношении кислого pH клеточное связывание, блокирование и эффекторная активность антител P1-068761 и P1-068767 к VISTA. На **фигурах 8A и 8B** показана средняя интенсивность флуоресценции селективных в отношении кислого pH антител P1-068761 (**фигура 8A**) и P1-068767 (**фигура 8B**), связывающихся с клетками Raji, эктопически экспрессирующими VISTA человека. Клетки окрашивали при приблизительно pH 6,0 (круги; самая высокая кривая на **фигуре 8A**), 6,1 (квадраты; третья самая высокая кривая), 6,2 (треугольники; вторая самая высокая кривая), 6,4 (перевернутые треугольники; четвертая самая высокая кривая, близкая к кривой при pH 6,1), 6,6 (ромбы; четвертая кривая снизу), 7,0 (круги; третья кривая снизу), 7,2 (квадраты; вторая кривая снизу) и 8,1 (незакрашенные треугольники; нижняя кривая на **фигуре 8A**). Связывание обнаруживали с помощью флуоресцентно конъюгированного вторичного антитела против человеческого IgG. На **фигуре 8C** показано связывание P1-068767 (круги) и изотипически сходного неспецифического контрольного антитела (треугольники) с клетками Raji, эктопически экспрессирующими VISTA человека при 3125 нг/мл при разном pH. Значение «pH₅₀», значение pH, при котором теряется 50% связывания с P1-068767, составляет приблизительно 6,6. На **фигуре 8D** показаны средние интенсивности флуоресценции (MFI) связывания изотипически сходного неспецифического контрольного антитела (закрашенные и незакрашенные круги для pH 7,0 и 6,0, соответственно), анти-VISTA mAb 2 («контроль», см. **фигуру 6C**, закрашенные и незакрашенные квадраты при pH 7,0 и 6,0, соответственно), P1-068761 (закрашенные и незакрашенные треугольники для pH 7,0 и 6,0, соответственно) и P1-068767 (закрашенные и незакрашенные перевернутые треугольники для pH 7,0 и 6,0, соответственно) с моноцитами человека. Связывание обнаруживали с помощью флуоресцентно конъюгированного вторичного антитела против человеческого IgG. На **фигуре 8E** показано сопоставимое блокирование

связывания рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4+ Т-клетками человека при pH 6,0 с помощью P1-061029 (квадраты), P1-068761 (треугольники) и P1-068767 (перевернутые треугольники), при этом не-VISTA-специфическое контрольное антитело (кружки) не блокировало связывание с VISTA. На **фигуре 8F** показана пониженная эффективность P1-068761 (треугольники) и P1-068767 (перевернутые треугольники) в отношении опосредования антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом pH. Также, показаны P1-061029 (квадраты), не-VISTA-специфическое положительное контрольное антитело (круги) и не-VISTA-специфическое отрицательное контрольное антитело (ромбы). Специфический лизис NK-клетками клеток-мишеней в виде процента от общего количества клеток-мишеней отложен по оси y, а концентрации антител отложены по оси x. Также, показаны нелинейные регрессии.

На **фигуре 9** показана улучшенная фармакокинетика (PK) селективных в отношении кислого pH анти-VISTA антител у яванских макаков. На **фигуре** показаны концентрации антител в сыворотке во времени у яванских макаков, подвергнутых лечению антителом 2 VISTA («контроль», круги, см. **фигуру 6C**), антителом 3 VISTA («чувствительное в отношении кислого pH», квадраты, см. **фигуру 6C**) или P1-068767 (треугольники).

На **фигурах 10A и 10B** показаны эффекты связывания мутаций в селективных в отношении кислого pH анти-VISTA антителах '761 и '767. На **фигуре 10A** показаны кинетические данные связывания реверсивных мутантов P1-068761 при pH 7,4, pH 6,7 и pH 6,0, и локализация их реверсивных мутаций относительно P1-068761. На **фигуре 10B** показаны кинетические данные связывания реверсивных мутантов P1-068767 при pH 7,4, pH 6,7 и pH 6,0, и локализация их реверсивных мутаций относительно P1-068767.

На **фигурах 11A-C** показана эпитоп-специфическая сортировка и картирование различных анти-VISTA антител. На **фигуре 11A** показана конкуренция в отношении эпитопа VISTA для P1-068761 и P1-068767 по сравнению с P1-061029 и контрольными антителами к VISTA. На **фигуре 11B** и **фигуре 11C** показаны изображения эпитопов всех остатков для блокирующего hVISTA антитела (**фигура 11B**), как указано в **таблице 14**, по сравнению с неблокирующим hVISTA антителом (mAb1; **фигура 11C**). Аминокислотные остатки 66(H) и 162(A) обозначают ориентацию молекулы. Остатки гистидина выделены серым цветом, а остатки эпитопа - черным.

На **фигуре 12А-С** показаны данные динамического капиллярного изоэлектрофокусирования (icIEF) для следующего: **фигура 12А**: P1-061029, **фигура 12В**: P1-068761 и **фигура 12С**: P1-068767. Указаны изоэлектрическая точка главных видов (pI главный вид), а также pI маркеров.

На **фигуре 13А и В** показаны выравнивания переменных областей для клонов потомства '029 и '015. На **фигуре 13А** показано выравнивание аминокислотных последовательностей переменных областей '029 и их клонов потомства. На **фигуре 13В** показано выравнивание аминокислотных последовательностей переменных областей '015 и их клонов потомства.

На **фигуре 14А и В** показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности 41F11 или VISTA.4 VH, показывающие локализацию CDR-областей.

На **фигуре 15А и В** показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности 41F11 или VISTA.4 VK1, показывающие локализацию CDR-областей.

На **фигуре 16А и В** показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности 41F11 или VISTA.4 VK2, показывающие локализацию CDR-областей.

На **фигуре 17А и В** показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности 41F11 или VISTA.4 VK3, показывая локализацию CDR-областей.

На **фигуре 18А** показано клеточное связывание блокирующего антитела VISTA.4 (рН 6,0, оранжевые направленные вниз треугольники; рН 7,0, красные квадраты), неблокирующего антитела VISTA.5 (рН 6,0, зеленые ромбы; рН 7,0, синие круги) и антитела, не связывающегося с VISTA (рН 6,0, незакрашенные круги; рН 7,0, незакрашенные направленные вверх треугольники), с клетками Raji, эктопически экспрессирующими VISTA. Данные представлены для более четырех независимых экспериментов. На **фигурах 18В и 18С** показаны сенсограммы связывания VISTA человека на основе SPR для блокирующего антитела VISTA.4 (**фигура 18В**; рН 6,0, светло-красный; рН 6,7, красный; рН 7,4, темно-красный) и неблокирующего антитела VISTA.5 (**фигура 18С**; рН 6,0, голубой; рН 6,7, синий; рН 7,4, темно-синий). Наложенные сенсограммы представляют собой ответы на связывание с 100 нМ VISTA, нормализованные к контрольной точке «связывания». Эти данные представлены для более четырех независимых экспериментов. На **фигуре 18D** показана эпитоп-специфическая сортировка антитела VISTA посредством перекрестного блокирования

VISTA.4 и VISTA.5. Каждая строка представляет уникальный клон, и для каждого клона светло-серый оттенок указывает на отсутствие перекрестной блокировки, и темно-серый оттенок указывает на перекрестное блокирование. Также, изображена способность связывания при pH 6,0 относительно способности связывания при pH 7,4, при этом темно-серая заливка указывает на более чем 3-кратное ослабление Kd при pH 6,0. Эти данные представляют один эксперимент.

На **фигурах 19А-С** показаны сенсограммы связывания VISTA человека на основе SPR (серии 100-0,2 нМ) для VISTA.4 (pH 6,0, пунктир; pH 7,4, сплошная линия) (**фигура 19А**), pH-независимого варианта VISTA.4 (pH 6,0, пунктирная линия; pH 7,4, сплошная линия) (**фигура 19В**) и селективного в отношении кислого pH варианта VISTA.4 (pH 6,0, пунктирная линия; pH 7,4, сплошная линия) (**фигура 19С**). Эти данные представляют 2 независимых эксперимента.

На **фигурах 20А и 20В** показан эпитоп VISTA.4, как определено с помощью MS-HDX (по кривой MS на фигуре 20А и последовательности на фигуре 20В).

На **фигурах 21А и 21В** показано связывание мультимера VISTA с активированными CD4⁺ Т-клетками человека при pH 6,0 в присутствии антител VISTA.4 (треугольники), VISTA.5 (квадраты) и в отсутствие связывания с VISTA (контроль, круги). На фигуре 21В показана блокирующая эффективность каждого антитела по сравнению с неблокированными Т-клетками. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с множественными сравнениями Даннета, ***, P < 0,001. Эти данные представляют более четырех независимых экспериментов. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На фигуре **22А-Д** показано, что антитела, которые блокируют связывание с VISTA при кислом pH, являются функциональными. Эффекты блокирующего антитела VISTA.4 (квадраты), неблокирующего антитела VISTA.5 (треугольники) и не связывающегося с VISTA (контроль, круги) антитела на пролиферацию (**фигура 22А**) и продукцию гамма-интерферона (**фигура 22В**) CD4⁺ Т-клеток человека, совместно культивируемых с клетками 293Т, сконструированными для экспрессии VISTA и агониста TCR (293Т-ОКТ3-VISTA). Пролиферацию измеряли в виде процента клеток, демонстрирующих разведение CellTrace™ Violet. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с множественными сравнениями Даннета, *, P < 0,05. Эти данные представляют три независимых эксперимента. На **фигуре 22С** показаны репрезентативные гистограммы разведения CellTrace™ Violet на CD4⁺ Т-клетках PBMC, совместно культивируемых с клетками 293Т-ОКТ3-VISTA, как описано на

фигуре 22А. Клетки совместно культивировали в присутствии VISTA.4, VISTA.5, не-VISTA-связывающего изотипически сходного антитела или без клеток 293Т-ОКТ3-VISTA (залитые серым цветом). Как показано на фигуре, кривые VISTA.5 и контроля тесно накладываются друг на друга, тогда как кривая VISTA.4, для сравнения, смещена вверх и влево. Эти данные представляют два независимых эксперимента. На **фигуре 22D** показаны результаты двух независимых экспериментов, в которых VISTA.4 или изотипически сходное не-VISTA-связывающее контрольное антитело добавляли к CD4+ Т-клеткам РВМС человека, совместно культивированным с клетками 293Т-ОКТ3 или 293Т-ОКТ3-VISTA, как описано на фигуре 22А. Частота пролиферирующих Т-клеток после совместного культивирования нанесена на фигуре. Парный t-критерий ***, P <0,0001.

На **фигуре 23А-D** показаны эффекты блокады VISTA и VISTA.4 на активацию Т-клеток Jurkat (путем измерения ингибирования NF-κB). На **фигуре 23А** показаны эффекты рН на клетки NFκB Luciferase Reporter Jurkat T cells, совместно культивированных с клетками 293Т-scОКТ3-VISTA. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего. Эти данные представляют собой комбинацию трех независимых экспериментов. На **фигуре 23В** показан сигнал люциферазы NF-κB в клетках Jurkat NFκB-Luciferase Cells, совместно культивированных с клетками 293Т-ОКТ3-VISTA, как описано на фигуре 23 (круги). Не культивированные совместно Jurkats (направленные вверх треугольники) включены в качестве контролей. Данные представляют два независимых эксперимента. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего. На **фигуре 23С** показаны эффекты рН на VISTA супрессию CD4+ Т-клеток человека. Клетки стимулировали при указанном рН с помощью покрывающего планшет ОКТ3 и VISTA-Fc, в присутствии VISTA.4 (направленные вверх треугольники), VISTA.5 (направленные вниз треугольники) или не связывающего VISTA антитела (контрольное антитело, квадраты). Также, показаны клетки, стимулированные покрывающим планшет ОКТ3 и контрольным IgG (контроль VISTA, черные круги) или без ОКТ3 (без ОКТ3, серый ромб). Эти данные представляют два независимых эксперимента. На **фигуре 23D** показаны эффекты рН на супрессию VISTA человеческих CD8+ Т-клеток. Клетки стимулировали при указанном рН с помощью покрывающего планшет ОКТ3 и VISTA-Fc в присутствии VISTA.4 (направленные вверх треугольники), VISTA.5 (направленные вниз треугольники) или антитела, не связывающегося с VISTA (контрольное антитело, квадраты). Также, показаны клетки, стимулированные

покрывающим планшет ОКТЗ и контрольным IgG (контроль VISTA, круги) или без ОКТЗ (без ОКТЗ, серый ромб). Эти данные представляют два независимых эксперимента.

Фигуры 24А-Р. Мышам C57BL6 дикого типа имплантировали опухоли MC38 и обрабатывали несвязывающимися изотипически сходными контрольными антителами (квадраты), мышинным VISTA-блокирующим антителом VISTA.10 (направленные вверх треугольники), мышиным блокирующим PD-1 антителом (квадраты) или комбинацией блокирующих VISTA и PD-1 антител (фиолетовые треугольники, направленные вниз). (См. **фигуры 24А-Д.**) Все антитела относились к мышиному изотипу IgG1-D265A (Fc-инертный). Эти данные представляют три независимых эксперимента. На **фигурах 24А-Д** показаны объемы опухоли во времени. $n = 10$ на группу. «TF» обозначает мышей, которые отторгли свои опухоли. На **фигурах 24Е-Ф** показана частота внутриопухолевых CD8⁺ Т-клеток (**фигура 24Е**) и CD4⁺ Т-клеток (**фигура 24Ф**) через 7 дней после начала лечения. $n = 5$ на группу. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA со множественными сравнениями Даннета, $P = 0,0001$. На **фигурах 24G и 24H** показан медианный объем опухоли во времени в каждой группе мышей (изотипический контроль: круги; анти-PD1 D265A: квадраты; анти-VISTA D265A: треугольники, направленные вверх; комбинация анти-PD-1 D265A и анти-VISTA D265A: треугольники, направленные вниз). **Фигура 24I:** Мышам с нокаутом VISTA и однопометникам дикого типа имплантировали опухоли MC38 и обрабатывали не-связывающимися изотипически сходными контрольными антителами (две верхние кривые (0/7 TF и 0/5 TF, отмеченные кругами и направленными вниз треугольниками) или антителом, блокирующим PD-1 мыши (две нижние кривые 0/5 TF и 5/8 TF, помечены квадратами и направленными вниз треугольниками). Медиана роста опухоли и количество мышей, у которых не было опухоли (TF) в конце исследования по сравнению с общим количеством мышей, показаны рядом с каждой кривой (например, 0/7 TF). Эти данные являются репрезентативными для двух независимых экспериментов. Планки погрешностей отображают интерквартильный размах. На **фигуре 24J-М** показаны объемы опухолей у мышей (KI) с нокином VISTA человека, которым имплантировали опухоли MC38 и лечили не-связывающимися изотипически сходными контрольными антителами (**фигура 24J**), мышиным блокирующим PD-1 антителом (**фигура 24K**), комбинацией мышинового блокирующего PD-1 антитела и неселективного в отношении pH блокирующего человеческого VISTA антитела P1-061029 (**фигура 24L**), или комбинацией мышинового блокирующего PD-1

антитела и селективного в отношении кислого рН блокирующего человеческого VISTA антитела P1-068767 (**фигура 24M**). Все антитела относились к изотипу IgG1-D265A мыши. Показаны объемы опухоли во времени. $n = 5-8$ на группу. Эти данные представляют один независимый эксперимент. На **фигуре 24N** показаны концентрации в сыворотке антител у мышей с нокином VISTA (knock-in, KI) и однопометных мышей дикого типа (WT) после внутривенной инъекции 5 мг/кг P1-061029 («VISTA.16») (WT, направленные вниз треугольники; KI, квадраты) или P1-068767 («VISTA.18») (WT, направленные вверх треугольники; KI, ромбы). Расчетное среднее время удержания в сыворотке (MRT) для P1-061029 и P1-068767 у KI мышей оценивается равным 4,1 часа и 71 час, соответственно. $n = 4$ KI мыши и 1-2 мыши WT на антитело. Эти данные представляют один эксперимент. На **фигуре 24O** показаны концентрации антител в сыворотке яванского макака после внутривенной инъекции 5 мг/кг VISTA.4 (круги) или P1-068767 («VISTA.18») (квадраты). Расчетное среднее время удержания в сыворотке (MRT) для VISTA.4 и P1-068767 составляет 7,6 часов и 717 часов, соответственно. $n = 1$ макака на антитело. Эти данные представляют один эксперимент. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего, если не указано иное. На **фигурах 24P и Q** показано отсутствие активности единственного агента антитела к VISTA у мышей с нокином VISTA человека. Мышам с нокином VISTA человека имплантировали опухоли MC38 и лечили, как описано на **фигурах 24J-M**. На **фигуре 24R** показана концентрация антител в крови у мышей дикого типа, подвергнутых лечению с помощью однократной внутривенной инъекции 200 мкг антитела против мышинового VISTA (направленные вниз треугольники) или изотипически сходного контрольного антитела (квадраты). $n = 2$ на антитело. Эти данные представляют два независимых эксперимента. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На **фигуре 25A-C** показаны репрезентативные гистограммы экспрессии PD-1 (фигура 25A), LAG-3 (фигура 25B) и TIM-3 (фигура 25C) на внутриопухолевых CD8⁺ Т-клетках через 7 дней после начала лечения. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего. В каждой части главные пики контрольного, анти-PD-1 и анти-VISTA антитела полностью накладываются друг на друга на правой стороне каждой панели, тогда как главный пик комбинации появляется слева.

На **фигуре 26A-C** показано, что VISTA связывается с PSGL-1 при кислом рН и что это взаимодействие блокируется антителами к VISTA P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4. На **фигуре 26A** показаны сенсограммы связывания BLI для

связывания Р-Селектин-Fc и VISTA-Fc с захваченным PSGL1 при pH 6,0 и pH 7,4. **Фигура 26B** представляет собой гистограмму, показывающую, что антитела P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4 ингибируют связывание PSGL-1 с hVISTA. На **фигуре 26C** показана блокада антителом связывания VISTA-Fc с клетками CHO-PSGL-1 с помощью антитела VISTA.4 (направленные вверх треугольники) и анти-PSGL-1 антитела KPL-1 (круги). Эти данные представляют два независимых эксперимента. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На **фигуре 27A-E** показаны изображения сокристаллической структуры P1-068767 Fab и hVISTA или (на **фигуре 27E**) неблокирующего антитела VISTA.5 и hVISTA. IgV-Домен VISTA отличается необычным, богатым гистидином удлинением его центрального β -листа. IgV-Домен VISTA был совместно кристаллизован с антигенсвязывающим фрагментом (Fab) P1-068767. Кристаллическая структура комплекса VISTA + P1-068767 определена при разрешении 1,6 Å. На **фигуре 27A** показана сокристаллическая структура IgV-домен VISTA : Fab P1-068767. На **фигуре 27A** показана общая структура IgV-домена VISTA в комплексе с Fab P1-068767 (тяжелая цепь, темно-серый цвет; легкая цепь, светло-серый цвет). На **фигуре 27B** показано наложение IgV-доменов VISTA и PD-L1. Остатки гистидина VISTA изображены в виде палочек. На **фигуре 27B** показано, что IgV-домен VISTA обладает необычным богатым гистидином удлинением β -листа. На **фигуре 27C** показана молекулярная поверхность эпитопа P1-068767 (светло-серая электростатическая поверхность), выявленная по кристаллической структуре VISTA + P1-068767. На **фигуре 27C** показано, что блокирующие антитела связываются с богатым гистидином удлинением β -листа VISTA. На **фигуре 27D** показан увеличенный вид области контакта между VISTA (рисунок с серой лентой, с остатками эпитопа H121, H122 и H123, изображенными в виде палочек) и P1-068767 (изображен в виде электростатической поверхности с остатками E100 и D102 в виде палочек). На **фигуре 27D** показано, что селективный по отношению к кислому pH P1-068767 захватывает гистидины VISTA с кислотными остатками. На **фигуре 27E** показано, что неблокирующее антитело VISTA.5 связывается в другой области hVISTA, отличной от P1-068767.

На **фигуре 28A-K** показано, что специфичность связывания VISTA : PSGL-1 определяется по остаткам гистидина и сульфотирозина. Как показано на **фигуре 28A**, рекомбинантные белки 19-mer-Fc PSGL-1 человека продуцировались в клетках в присутствии сиалил-Льюис X или без него (SLX+ и SLX-, соответственно). Величины

связывания BLI при pH 6,0 (белый) и 7,4 (черный) показаны для VISTA-Fc и P-селектин-Fc, как указано. Данные являются репрезентативными для одного независимого эксперимента. Как показано на **фигуре 28B**, гликопептиды 19-мер-Fc PSGL-1 человека, полученные в присутствии сиалил-Льюис X, были разделены на фракции, содержащие более 90% сульфатирования тирозина (sY-богатая фракция) и менее 1% сульфатирования тирозина (sY-обедненная фракция). Величины связывания BLI при pH 6,0 (белый) и 7,4 (черный) показаны для VISTA-Fc и P-селектин-Fc, как указано. Эти данные представляют один независимый эксперимент. Как показано на **фигурах 28C-28D**, рекомбинантные белки VISTA-Fc человека получали с остатками гистидина в положениях 153-155, оставленными интактными (WT VISTA) или замененными на аланин (мутант H2A), аспарагиновую кислоту (мутант H2D) или аргинин (мутант H2R). На **фигуре 28C** показаны величины связывания BLI для белков VISTA-Fc дикого типа и мутантных белков, связывающихся с захваченным PSGL-1 при pH 6,0 и 7,4. Эти данные представляют один эксперимент. На **фигуре 28D** показано связывание VISTA-Fc с клетками CHO-PSGL-1 при pH 6,0 WT VISTA (круги), мутанта H2A (квадраты), мутанта H2D (направленные вниз треугольники) и мутанта H2R (направленные вверх серые треугольники), а также контроля (ромбы). Эти данные представляют два независимых эксперимента. На **фигуре 28E** показана вычислительная модель 19-мерного гликопептида PSGL-1 (вверху) в комплексе с богатой гистидином контактной областью лиганда VISTA (серые ленты, внизу). Отмечены остатки VISTA H98, H100, H153 и H154. Также, отмечены остатки PSGL-1 Y46, Y48, E56, T57 и Y58. На **фигуре 28F** показана супрессия VISTA-Fc первичной T-клеточной активации при pH 6,8, как определено по уровню фосфора-NFkB, где VISTA-Fc представляет собой VISTA дикого типа (вторая полоса), мутант H2A VISTA (имеющий His 153-155, мутировавший в аланин; третья полоса), мутант H2D VISTA (имеющий His 153-155, мутировавший в аспарагиновую кислоту; четвертая полоса) и мутант H2R VISTA (имеющий His 153-155, мутировавший в аргинин; пятая полоса). Эти данные представляют два независимых эксперимента. На **фигурах 28G и H** показаны величины связывания BLI для захваченного VISTA.5 (неблокирующее антитело, **фигура 28G**) и P1-061029 (блокирующее антитело, **фигура 28H**), связывающихся с захваченным белком VISTA-Fc дикого типа (WT, крайние левые столбцы), с мутацией гистидина в аланин (H2A, столбцы вторые слева), с мутацией гистидина в аспарагиновую кислоту (H2D, второй справа) и с мутацией гистидина в аргинин (H2R, крайний справа) при указанном pH. Эти данные представляют один

независимый эксперимент. На **фигуре 28I** показаны величины связывания BLI анти-PSGL-1 клона KPL1 с захваченными общими, бедными сульфотирозином и богатыми сульфотирозином фракциями 19-mer-Fc PSGL-1 при pH 6,0 (левые столбцы) и pH 7,4 (правые столбцы). Эти данные представляют один независимый эксперимент. На **фигуре 28J** показаны величины связывания BLI 19-mer-Fc PSGL-1 дикого типа (WT, слева) и 19-mer-Fc PSGL-1 с мутацией тирозина в аланин (Y2A, справа) с захваченным VISTA-Fc при указанном pH. Эти данные представляют один независимый эксперимент. На **фигуре 28K** показан другой вид компьютерной модели, показанной на **фигуре 28E**, 19-мерного гликопептида PSGL-1 (вверху) в комплексе с богатой гистидином контактной областью лиганда VISTA (серые ленты, внизу).

На **фигуре 29** представлена таблица, показывающая кинетику связывания мутированного белка hVISTA с hPSGL-1 или анти-VISTA антителами.

Подробное описание изобретения

Определения

В этой заявке применение «или» означает «и/или», если не указано иное. В контексте пункта с множественной зависимостью, применение «или» касается отсылки к более чем одному из предшествующих независимых или зависимых пунктов исключительно в качестве альтернативы. Термины «содержащий», «включающий» и «имеющий» могут быть использованы в настоящем документе взаимозаменяемо. В соответствии с настоящим изобретением «выделенная» молекула представляет собой молекулу, которая была удалена из своей естественной среды. Таким образом, термин «выделенная» не обязательно отражает степень, до которой молекула была очищена.

Термин «полипептид» относится к полимеру, состоящему из аминокислотных остатков, и не ограниченному минимальной длиной. «Белок» может содержать один или несколько полипептидов. Такие полимеры, состоящие из аминокислотных остатков, могут содержать природные или неприродные аминокислотные остатки и включают, но без ограничения, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры, состоящие из аминокислотных остатков. Полноразмерные белки, а также их фрагменты охватываются этим определением. Термины также включают постэкспрессионные модификации полипептида, например, гликозилирование, сиалирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.д. Кроме того, для целей настоящего изобретения «полипептид» или «белок» относится к полипептиду или белку, соответственно, который включает модификации, такие как делеции, добавления и замены (обычно консервативного характера), природной

последовательности, при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть направленными, как например, сайт-направленный мутагенез, или могут быть случайными, такими как мутации хозяев, которые продуцируют белки или ошибки в результате PCR-амплификации. Белок может содержать два или более полипептидов.

«VISTA» является аббревиатурой для содержащего V-домен иммуноглобулина супрессора белка активации Т-клеток, который является членом семейства B7 регуляторов иммунных контрольных точек. VISTA также известен как гомолог PD-1 (PD1H), B7-H5, C10orf54, дифференцировка ESC-1 (Dies-1), предшественник тромбоцитарного рецептора Gi24 и домен смерти 1 α (DD1 α). Термин «hVISTA» или «huVISTA» в настоящем документе относится к белку VISTA человека. Аминокислотная последовательность hVISTA, включая его сигнальный пептид, представлена в SEQ ID NO: 1, при этом последовательность без сигнального пептида представлена в SEQ ID NO: 2. (См. таблицу последовательностей ниже.) Внеклеточный домен или «ECD» VISTA или «VISTA-ECD» относится к части белка VISTA, которая расположена во внеклеточном пространстве, которая, в случае hVISTA, содержит аминокислоты 1-162 из SEQ ID NO: 2. (См. также фигуру 1B.) Часть hVISTA «IgV-домен» содержит остатки 5-135 из SEQ ID NO: 2.

Термин «лидерный пептид» или «лидерная последовательность» относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может быть отщеплена при экспорте полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и они могут быть гетерологичными или гомологичными белку, к которому они присоединены.

Термин «антитело» или «Ab» в настоящем документе используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, но без ограничения, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела) и фрагменты антител, при условии, что они демонстрируют желательную антигенсвязывающую активность. Используемый в настоящем документе термин относится к молекуле, содержащей по меньшей мере определяющую комплементарность область (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и по меньшей мере CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, при этом молекула способна связываться с антигеном. Термин «антитело» включает, но без

ограничения, фрагменты, которые способны связывать антиген, например, «антиген-связывающие фрагменты» или «фрагменты антитела», такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab')₂. Термин «антитело» также включает, но без ограничения, химерные антитела, гуманизированные антитела, человеческие антитела и антитела разных видов, таких как мышинное, яванского макака и *т.д.*

Термин «тяжелая цепь» или «HC» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область тяжелой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. Термин «полноразмерная тяжелая цепь» относится к полипептиду, содержащему переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи с лидерной последовательностью или без нее, а также с С-концевым лизином (K) или без него.

Термин «переменная область тяжелой цепи» или «VH» относится к области, содержащей определяющую комплементарность область тяжелой цепи (CDR) 1, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4. Как указано ниже, в некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи содержит остатки 26-35 из VH SEQ ID NO в настоящем документе; CDR2 тяжелой цепи содержит остатки 50-66 из VH SEQ ID NO в настоящем документе, а CDR3 тяжелой цепи содержит остатки 99-110 из VH SEQ ID NO в настоящем документе. В других вариантах осуществления, если указано, CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам по Kabat 31-35; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам по Kabat 50-65; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам по Kabat 95-102. *См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.).* В некоторых вариантах осуществления CDR тяжелой цепи являются такими, как указано в настоящем документе, например, в таблице последовательностей ниже или в таблице 2.

Термин «легкая цепь» или «LC» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область легкой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. Термин «полноразмерная легкая цепь» относится к полипептиду, содержащему переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи с лидерной последовательностью или без нее.

Термин «вариабельная область легкой цепи» или «VL» относится к области, содержащей CDR1, FR2, HVR2, FR3 и HVR3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также содержит FR1 и/или FR4. Как указано ниже, в некоторых вариантах осуществления CDR1 легкой цепи содержит остатки 24-35 из VL SEQ ID NO в настоящем документе; CDR2 легкой цепи содержит остатки 51-57 из VL SEQ ID NO в настоящем документе и CDR3 легкой цепи содержит остатки 90-98 из VL SEQ ID NO в настоящем документе. В других вариантах осуществления, если указано, CDR1 легкой цепи соответствует остаткам по Kabat 24-34; CDR2 легкой цепи соответствует остаткам по Kabat 50-56; и CDR3 легкой цепи соответствует остаткам по Kabat 89-97. *См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.).* В некоторых вариантах осуществления CDR легкой цепи являются такими, как указано в настоящем документе, например, в таблице последовательностей.

«Химерное антитело» относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или видов, тогда как остальная часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или видов. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну вариабельную область от первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т.д.) и по меньшей мере одну константную область от второго вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну мышиную вариабельную область и по меньшей мере одну человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область яванского макака и по меньшей мере одну человеческую константную область человека. В некоторых вариантах осуществления все вариабельные области химерного антитела происходят от первых видов и все константные области химерного антитела происходят от вторых видов.

«Гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой вариабельной области заменена соответствующей аминокислотой из человеческой вариабельной области. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой Fab, scFv, (Fab')₂ и т.д.

Используемый в настоящем документе термин «человеческое антитело» относится к антителам, продуцируемым у человека, антителам, продуцируемым у животных, не относящихся к человеку, которые содержат гены иммуноглобулинов человека, таких как XenoMouse®, и антителам, отобранным с использованием методов *in vitro*, таких как фаговый дисплей, при этом репертуар антител основан на последовательностях человеческого иммуноглобулина.

В контексте настоящего описания «антитело к VISTA» или «анти-VISTA антитело» относится к антителу, которое специфически связывается с VISTA по меньшей мере в некоторых условиях, таких как кислый pH. В некоторых вариантах осуществления антитело может представлять собой «антитело к huVISTA» или «анти-huVISTA антитело», что указывает на то, что оно специфически связывается с человеческим белком VISTA по меньшей мере в некоторых условиях, таких как кислый pH. Антитело к VISTA, которое специфически связывается с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, например, может быть названо «антителом к VISTA-ECD».

В некоторых вариантах осуществления антитело может связываться с VISTA с более высокой аффинностью при кислом pH, чем при нейтральном и/или физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления антитело может связываться с более высокой аффинностью с VISTA при кислом pH и может связываться только незначительно или неспецифически при нейтральном и/или физиологическом pH.

« K_D » или «константа диссоциации» в отношении связывания антитела с белком, например, белком VISTA-ECD, является мерой аффинности или специфического связывания антитела с белком, например, белком VISTA-ECD. Более низкое значение K_D указывает на улучшенное связывание или аффинность по сравнению с более высоким значением K_D . Значение K_D состоит из соотношения между «скоростью диссоциации» или k_{off} , или k_d и «скоростью ассоциации» или k_{on} , или k_a для антитела и полипептида. Скорость диссоциации и скорость ассоциации представляют собой скорости, с которыми два связывающихся партнера ассоциируют и диссоциируют в системе. Таким образом, более медленная скорость диссоциации, когда скорость ассоциации остается примерно постоянной, приводит к более высокой общей аффинности и, таким образом, более низкому значению K_D . В контексте настоящего документа k_{off} , имеющая конкретное значение «или меньше», указывает на то, что k_{off} или «скорость диссоциации» соответствует указанной скорости, или меньше, чем указанная скорость.

Термины «специфическое связывание» или «специфически связывается», или подобные термины означают, что K_D в отношении связывания двух полипептидов, таких как антитело и его полипептид-мишень, меньше, чем было бы в случае между двумя случайными полипептидами, существующими в одних и тех же условиях. Другими словами, значение K_D меньше, чем значение, обусловленное неспецифической агрегацией полипептидов в системе.

В некоторых вариантах осуществления антитела специфически связываются с белком VISTA-ECD при определенном pH или в определенном диапазоне pH. «Кислый» pH в настоящем документе обычно относится к pH меньше 7,0, «щелочной» pH обычно относится к pH выше 7,0, и «нейтральный» pH обычно относится к pH около 7,0. В настоящем документе «физиологический pH» относится к pH в нормальных (т.е. незлокачественных) физиологических условиях, например, от 7,35 до 7,45 или от 7,3 до 7,4, такому как около 7,4. Выражения, такие как «связывание в кислых условиях» или «связывание в физиологических условиях» и т.п. в настоящем документе, используемые в контексте связывания двух молекул, таких как VISTA и партнер по связыванию с VISTA, или VISTA и T-клетка, относятся к связыванию при кислом pH и связыванию при физиологическом pH, соответственно.

При упоминании антитела, которое «блокирует связывание» или «ингибирует связывание» лиганда (или рецептора) или конкурирующего антитела с рецептором (или лигандом) отдельно или на клетке, связывание блокируется, если наблюдается общее снижение, которое является статистически значимым по сравнению с контролем, например, общее снижение составляет 50% или более, например, общее снижение составляет 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более. «Анти-VISTA блокирующее антитело», например, представляет собой антитело, которое может блокировать связывание VISTA с PSGL-1 или другим лигандом VISTA, или рецептором, или гепарансульфат-протеогликанами по меньшей мере в некоторых условиях, таких как кислый pH.

«Модель опухоли» в контексте настоящего описания относится к доклиническому анализу *in vivo*, который может быть использован для изучения биологической активности антитела к VISTA-ECD, и включает системы анализа ксенотрансплантатов опухолей или собственных опухолей мышей. В некоторых случаях модель опухоли может позволить отслеживать размер или рост опухоли после лечения антителом, и/или отслеживать присутствие иммунных клеток в опухоли, таких

как специфические типы Т-клеток или NK-клеток, чтобы определить, вызывает ли антитело иммунный ответ или усиливает его.

Используемый в настоящем документе термин «иммуностимулирующий агент» относится к молекуле, которая стимулирует иммунную систему либо путем действия в качестве агониста иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, либо путем действия в качестве антагониста иммунной ингибирующей молекулы, включая коингибирующую молекулу. Иммуностимулирующая молекула или иммуноингибирующая молекула может представлять собой регулятор иммунных контрольных точек, таких как VISTA или другой член семейства B7, или другая молекула, как описано ниже. Иммуностимулирующий агент может представлять собой биологический препарат, такое как антитело или фрагмент антитела, другой белок или вакцина, или может представлять собой низкомолекулярное лекарственное средство. «Иммуностимулирующая молекула» включает рецептор или лиганд, который действует таким образом, чтобы усилить, стимулировать, индуцировать или иным образом «включить» иммунный ответ. Иммуностимулирующие молекулы, как определено в настоящем документе, включают костимулирующие молекулы. «Иммуноингибирующая молекула» включает рецептор или лиганд, который действует таким образом, чтобы уменьшить, ингибировать, подавить или иным образом «выключить» иммунный ответ. Иммуноингибирующие молекулы, как определено в настоящем документе, включают коингибирующие молекулы. Такие иммуностимулирующие и иммуноингибирующие молекулы могут представлять собой, например, рецепторы или лиганды, обнаруживаемые на иммунных клетках, таких как Т-клетки, или обнаруживаемые на клетках, участвующих в реакциях врожденного иммунитета, таких как NK-клетки.

«Процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей» и «гомологию» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела определяют как процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в специфической пептидной или полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и внесения, в случае необходимости, гэпов для достижения максимального процента идентичности последовательностей, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотных последовательностей можно проводить различными способами, которые известны специалистам в данной области, например,

используя общедоступное программное обеспечение, такое как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для проведения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания на протяжении полной длины сравниваемых последовательностей.

Термины «запускать» или «усиливать» относятся к иницированию или увеличению какого-либо события (такого как связывание белка с лигандом) или к иницированию или увеличению любой биологической активности (такой как иммунный ответ) или фенотипической характеристики, или к иницированию или увеличению частоты возникновения, степени или вероятности такой активности или характеристики. «Запускать» или «усиливать» означает начало или увеличение активности, функции и/или количества по сравнению с эталоном. Необязательно, чтобы запуск или усиление было полным. Например, в некоторых вариантах осуществления под «усилением» подразумевается способность вызывать общее увеличение на 20% или более. В другом варианте осуществления под «усилением» подразумевается способность вызывать общее увеличение на 50% или более. В еще одном варианте осуществления под «усилением» подразумевается способность вызывать общее увеличение на 75%, 85%, 90%, 95% или более.

Термины «ингибирование» или «ингибировать» в более общем смысле относятся к уменьшению или прекращению какого-либо события (такого как связывание белка с лигандом), или к уменьшению или прекращению какой-либо фенотипической характеристики, или к уменьшению или прекращению частоты возникновения, степени или вероятности такой характеристики. «Уменьшать» или «ингибировать» означает снижать, уменьшать или останавливать активность, функцию и/или количество по сравнению с эталоном. Необязательно, чтобы подавление или сокращение было полным. Например, в некоторых вариантах осуществления под «снижением» или «подавлением» подразумевается способность вызывать общее снижение на 20% или более. В другом варианте осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 50% или более. В еще одном варианте осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 75%, 85%, 90%, 95% или более.

«Лечение» в контексте настоящего описания охватывает любое введение или нанесение терапевтического средства для лечения заболевания у человека и включает ингибирование заболевания или прогрессирования заболевания, или одного или нескольких симптомов заболевания, ингибирование или замедление заболевания или его прогрессирования, или одного или нескольких симптомов, остановку развития, частичное или полное облегчение заболевания или одного или нескольких его симптомов, или предотвращение повторного возникновения одного или нескольких симптомов заболевания.

Термины «субъект» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения человека.

Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству лекарственного средства, эффективного для лечения заболевания или нарушения у субъекта, например, для частичного или полного облегчения одного или нескольких симптомов. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата.

Термин «рак» используется в настоящем документе для обозначения группы клеток, которые демонстрируют аномально высокие уровни пролиферации и роста. Рак может быть доброкачественным (также называемым доброкачественной опухолью), предзлокачественным или злокачественным. Раковые клетки могут представлять собой солидные раковые клетки или лейкоэмические раковые клетки. Термин «рост опухоли» используется в настоящем документе для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, которые содержат рак, что приводит к соответствующему увеличению размера или степени рака.

Примеры рака, применимые к способам лечения, описанным в настоящем документе, включают, но без ограничения, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких видов рака включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (включая плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной

железы, рак толстой кишки, колоректальный рак, карциному эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки, почечно-клеточный рак, рак печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичек, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи (включая плоскоклеточный рак головы и шеи).

Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (параллельное) и следующее друг за другом (последовательное) введение в любом порядке.

«Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному составу или носителю, общепринятому в данной области для применения с терапевтическим агентом, которые вместе составляют «фармацевтическую композицию» для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель является подходящим для используемого состава. Например, если терапевтический агент подлежит пероральному введению, носителем может служить гелевая капсула. Если терапевтический агент подлежит подкожному введению, носитель в идеальном случае не вызывает раздражения кожи и не вызывает реакции в месте инъекции.

«Химиотерапевтический агент» представляет собой химическое соединение, которое применяют для лечения рака. Примеры химиотерапевтических агентов, которые можно вводить в способах настоящего документа, включают, но без ограничения, алкилирующие агенты, такие как тиотепа и Cytosan[®] циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилтиофосфорамид и триметилмеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги КВ-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, такие

как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимнустин; антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (*например*, калихеамицин, в частности, калихеамицин гамма II и калихеамицин омега II (*см.*, *например*, Agnew, *Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994))); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также неокарциностабиновый хромофор и родственные хромофоры хромопротеиновых энедииновок антибиотиков), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицин, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, Adriamycin® (доксорубицин, морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эсорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиروмицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностаин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; пиримидиновые аналоги, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепитиостан, тестолактон; антиадреналины, такие как аминоклотеимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фолиевая кислота; ацеглатон; альдофосфамидгликозид; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфортин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтансиноиды, такие как майтансин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраэрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; теназоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А,

пори́дин А и анги́идин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ага-С»); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел Taxol® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), не содержащий кремофор Абрахане®, препараты из наночастиц паклитаксела, сконструированных на основе альбумина (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) и доксетаксел Taxotere® (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France); хлоранбуцил; гемцитабин Gemzar®; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин Navelbine®; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; иринотекан (Camptosar, CPT-11) (включая схему лечения иринотеканом с 5-FU и лейковорином); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретастин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая схему лечения оксалиплатином (FOLFOX); ингибиторы PKC-альфа, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®)) и VEGF-A, которые уменьшают клеточную пролиферацию, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

Дополнительные неограничивающие иллюстративные химиотерапевтические агенты, которые можно вводить способами, описанными в настоящем документе, включают антигормональные агенты, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на рак, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (SERM), включая, например, тамоксифен (включая Nolvadex® тамоксифен), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен Fareston®; ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, который регулирует выработку эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, Megase® мегестрола ацетат, Агомасин® экземестан, форместан, фадрозол, Rivois® ворозол, Femara® летрозол и Arimidex® анастрозол; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гoserelin; а также троксацитабин (1,3-диоксолановый аналог нуклеозида цитозина); антисмысловые олигонуклеотиды, особенно те, которые ингибируют экспрессию генов в путях передачи сигналов, участвующих в aberrantной пролиферации клеток, таких как, например, PKC-альфа, Ralf и H-Ras; рибозимы, такие как ингибитор экспрессии VEGF (например, рибозим Angiozyme®) и ингибитор экспрессии HER2; вакцины, такие как вакцины генотерапии, например, вакцина

Allovecin[®], вакцина Leuvecin[®] и вакцина Vaxid[®]; Proleukin[®] rIL-2; ингибитор топоизомеразы 1, такой как Lurtotecan[®]; gmRN Abarelis[®]; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

«Антиангиогенный агент» или «ингибитор ангиогенеза» относится к низкомолекулярному веществу, полинуклеотиду (включая, *например*, ингибирующую РНК (РНКi или siРНК)), полипептиду, выделенному белку, рекомбинантному белку, антителу или к их конъюгатам или слитым белкам, которые прямо или опосредованно ингибируют ангиогенез, васкулогенез или нежелательную сосудистую проницаемость. Следует понимать, что агент против ангиогенеза включает такие агенты, которые связывают и блокируют ангиогенную активность ангиогенного фактора или его рецептора. Например, агент против ангиогенеза, который можно вводить в способах по настоящему изобретению, может представлять собой антитело или другой антагонист ангиогенного агента, *например*, антитела к VEGF-A (*например*, бевацизумаб (Avastin[®])) или к VEGF-A рецептору (*например*, KDR рецептору или Flt-1 рецептору), ингибиторы антител к PDGFR, такие как Gleevec[®] (иматиниба мезилат), молекулы низкомолекулярных веществ, которые блокируют передачу сигнала от VEGF рецептора (*например*, PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent[®]/SU11248 (сунитиниба малат), AMG706 или такие, которые описаны, *например*, в Международной патентной заявке WO 2004/113304). Агенты против ангиогенеза включают также нативные ингибиторы ангиогенеза, *например*, ангиостатин, эндостатин и *т.д.* См., *например*, Klagsbrun and D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit and Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (*например*, в таблице 3 приводится антиангиогенная терапия при злокачественной меланоме); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364; Tonini *et al.* (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (*например*, в таблице 2 приводятся известные антиангиогенные факторы); и Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 (*например*, в таблице 1 приводятся антиангиогенные агенты, применяемые в клинических испытаниях).

Используемый в настоящем документе термин «агент, ингибирующий рост» относится к соединению или композиции, которая ингибирует рост клетки (такой как клетка, экспрессирующая VEGF) *in vitro* или *in vivo*. Таким образом, агент, ингибирующий рост, который можно вводить способами, описанными в настоящем документе, может представлять собой агент, который значительно снижает процентное содержание клеток (таких как клетки, экспрессирующие VEGF) в S-фазе. Примеры агентов, ингибирующих рост, включают, но без ограничения, агенты, которые

блокируют дальнейшее развитие клеточного цикла (не в S-фазе), такие как агенты, которые индуцируют остановку клеточного цикла в G1 фазе или в M-фазе. Классические блокаторы M-фазы включают алкалоиды винка (винкристин и винбластин), таксаны и ингибиторы топоизомеразы II, такие как доксорубицин, эпирубицин, даунорубицин, этопозид и блеомицин. Агенты, которые останавливают клеточный цикл в фазе G1, также распространяют свое действие на остановку клеточного цикла в S-фазе, например, агенты, алкилирующие ДНК, такие как тамоксифен, преднизон, дакарбазин, мехлорэтамин, цисплатин, метотрексат, 5-фторурацил и ara-C. Более подробные сведения можно найти в книге Mendelsohn and Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami *et al.* (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), *например*, стр. 13. Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) представляют собой противораковые препараты, оба получены из тисового дерева. Доцетаксел (Taxotere[®], Rhone-Poulenc Roger), полученный из европейского тиса, является полусинтетическим аналогом паклитаксела (Taxol[®], Bristol-Myers Squibb). Паклитаксел и доцетаксел стимулируют сборку микротрубочек из димеров тубулина и стабилизируют микротрубочки, предупреждая деполимеризацию, что приводит к ингибированию митоза в клетках.

Термин «противоопухолевая композиция» относится к композиции, применимой для лечения рака, содержащей по меньшей мере один активный терапевтический агент. Примеры терапевтических агентов включают, но без ограничения, *например*, химиотерапевтические агенты, агенты, ингибирующие рост, цитотоксические агенты, агенты, применяемые в лучевой терапии, агенты против ангиогенеза, иммунотерапевтические агенты против рака, апоптотические агенты, антитубулиновые агенты и другие агенты для лечения рака, такие как антитела против HER-2, антитела против CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (*например*, ингибитор тирозинкиназ), ингибитор HER1/EGFR (*например*, эрлотиниб (Tarceva[®]), ингибиторы тромбоцитарного фактора роста (*например*, Gleevec[®] (иматиниба мезилат)), ингибитор COX-2 (*например*, целекоксиб), интерфероны, ингибиторы CTLA4 (*например*, антитело против CTLA и пилимумаб (YERVOY[®])), ингибиторы PD-1 или PD-L1 (*например*, OPDIVO[®], KEYTRUDA[®], TECENTRIQ[®], BAVENCIO[®], IMFINZI[®]), ингибиторы TIM3 (*например*, антитела против TIM3), цитокины, антагонисты (*например*, нейтрализующие антитела), которые связываются с одной или несколькими из следующих мишеней ErbB2, ErbB3, ErbB4,

PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, CTLA4, TIM3 или VEGF рецептор(ы), TRAIL/Apo2 и другие биологически активные и органические химические агенты и *т.д.* Раскрытие также охватывает их комбинации.

Антитела, специфически связывающиеся с VISTA-ECD при кислом pH

Так как VISTA имеет большое число остатков гистидина в своем внеклеточном домене (ECD), его сворачивание и общая структура, а также поверхность, доступная для связывания лигандов, таких как антитела, могут отличаться при кислом pH по сравнению с нейтральным pH, в частности, при pH около 6,5, что соответствует pK_a для гистидина. Поскольку микроокружение опухоли обычно является кислым, для связывания с VISTA в этом микроокружении может потребоваться специфическое связывание антитела с VISTA при кислом pH, где по меньшей мере некоторые из поверхностных остатков гистидина с большей вероятностью будут протонированы.

В приведенной ниже таблице последовательностей представлена аминокислотная последовательность VISTA человека (hVISTA) с сигнальным пептидом или без него (SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2 (зрелый hVISTA)), соответственно. Сигнальный пептид составлен аминокислотными остатками 1-32 в SEQ ID NO: 1. Внеклеточный домен (ECD) составлен аминокислотными остатками 1-162 в SEQ ID NO: 2. Домен IgV составлен аминокислотными остатками 37-167 в SEQ ID NO: 1 и аминокислотными остатками 5-135 в SEQ ID NO: 2. Стеблеобразная область составлена аминокислотными остатками 172-194 в SEQ ID NO: 1 и аминокислотными остатками 136-162 в SEQ ID NO: 2; трансмембранный домен составлен аминокислотными остатками 195-216 в SEQ ID NO: 1 и аминокислотными остатками 163-184 в SEQ ID NO: 2. Аминокислотный остаток 187 в SEQ ID NO: 1 и 155 в SEQ ID NO: 2 (выделено жирным шрифтом и подчеркнуто) может представлять собой D или E, что представляет полиморфизм в hVISTA. Этот остаток выделен жирным шрифтом с подчеркиванием. Соответственно, SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2 охватывают оба полиморфизма человека по этому остатку. Остатки гистидина в ECD VISTA затемнены серым цветом.

Анти-VISTA антитела (Abs) могут специфически связываться с VISTA-ECD или его фрагментами, например, содержащими IgV-домен VISTA или область из hVISTA, содержащую, например, аминокислоты 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 в SEQ ID NO: 2, при кислом pH. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении pH, которое ниже pH 7,0. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком

VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 6,8. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 6,5. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 6,3. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 6,0. В определенных вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН ниже рН 5,8. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН ниже рН 5,5. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 5,3. В некоторых вариантах осуществления Аб специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении рН, которое ниже рН 5,0.

Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне от рН 5,0 до рН 7,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне от рН 5,0 до рН 6,5. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне от рН 5,0 до рН 6,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне от рН 5,5 до рН 7,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне от рН 5,5 до рН 6,5. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD при рН в диапазоне рН 6,0-6,5.

В настоящем документе также обеспечены Abs, которые связываются с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD, или его фрагментами, содержащими IgV-домен VISTA или область из hVISTA, содержащую, например, аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 в SEQ ID NO: 2, при рН 6,5 или меньше, со значением K_D , равным 10^{-6} М или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-9} М. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-10} М или менее. Например, Аб может связываться с белком VISTA-ECD при рН 6,5 или менее с K_D 10^{-8} М или менее.

В настоящем документе также обеспечены Abs, которые связываются с белком VISTA-ECD в диапазоне рН 6,0-6,5 со значением K_D , равным 10^{-6} М или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-7} М

или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-9} М. В некоторых вариантах осуществления Abs связываются со значением K_D , равным 10^{-10} М или менее. Например, Аб может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее. Кроме того, Аб может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее. Аб может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее.

В настоящем документе также обеспечены Abs, которые специфически связываются с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD, или его фрагментами, содержащими IgV-домен VISTA или область из hVISTA, содержащую, например, аминокислоты 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 из SEQ ID NO: 2, например, при pH 6,5 или менее, со значением k_{off} , равным 10^{-5} с⁻¹ или менее, при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 10^{-4} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 2×10^{-4} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 5×10^{-4} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 7×10^{-4} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 2×10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 5×10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 7×10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 10^{-2} с⁻¹ при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Abs имеют значение k_{off} , равное 10^{-1} с⁻¹ при 25 °С или 37 °С. Например, Аб может специфически связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением k_{off} , равным 10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. Аб может специфически связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением k_{off} , равным 10^{-3} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С. Кроме того, Аб может специфически связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением k_{off} , равным 10^{-2} с⁻¹ или менее при 25 °С или 37 °С.

В настоящем документе обеспечены Abs, которые связываются с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD, или его фрагментами, содержащими IgV-домен VISTA или область из hVISTA, содержащую, например, аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70 или 35-95, 35-95, 35-127 или 37-125 из SEQ ID NO: 2, например, при pH 6,5 или менее, со (I) значением K_D , равным 10^{-6} М или менее, 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М или менее, или 10^{-10} М или менее, и (II) значением скорости k_{off} , равной 10^{-5} с⁻¹ или менее, 10^{-4} (или 2, 5 или 7×10^{-4}) с⁻¹ или менее, 10^{-3} (или 2, 5 или 7×10^{-4}) с⁻¹ или менее, 10^{-2} с⁻¹ или менее, или 10^{-1} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее и со значением скорости k_{off} , равной 10^{-3} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-3} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-2} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-3} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-3} с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-4} (или 2, 5 или 7×10^{-4}) с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-5} (или 2, 5 или 7×10^{-5}) с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-4} (или 2, 5 или 7×10^{-4}) с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее, и со скоростью k_{off} , равной 10^{-5} (или 2, 5 или 7×10^{-5}) с⁻¹ или менее, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С.

В настоящем документе обеспечены Abs, которые специфически связываются с белком VISTA-ECD, например, при pH 6,5 или менее, со значением k_{on} , равным 10^4 М⁻¹ с⁻¹ или выше, при 25 °С или при 37 °С. В некоторых таких вариантах осуществления

Abs могут связываться со значением k_{on} , равным $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше. В некоторых таких вариантах осуществления Abs могут связываться со значением k_{on} , равным $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше. В некоторых таких вариантах осуществления Abs могут связываться со значением k_{on} , равным $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше. Например, Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением k_{on} , равным $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, Ab может связываться с ECD hVISTA при pH 6,5 или менее со значением k_{on} , равным $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C.

В настоящем документе обеспечены Abs, которые связываются с белком VISTA-ECD, например, при pH 6,5 или менее, (i) со значением K_D , равным 10^{-6} M или менее, 10^{-7} M или менее, 10^{-8} M или менее, 10^{-9} M или менее или 10^{-10} M или менее, и (ii) со значением k_{on} , равным $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-7} M или менее, и со скоростью k_{on} , равной $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со скоростью k_{on} , равной $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-7} M или менее, и со скоростью k_{on} , равной $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, Ab может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со скоростью k_{on} , равной $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C.

В некоторых вариантах осуществления Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-7} M или менее, а также со значением k_{off} , равным 10^{-5} c^{-1} или менее, $2 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее, $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее, $7 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее, 10^{-4} c^{-1} или менее, $2 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее, $5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее, $7 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее, 10^{-3} c^{-1} или менее, $2 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, 10^{-2} c^{-1} или менее, или 10^{-1} c^{-1} или менее, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. В некоторых вариантах осуществления Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-9} M или менее, а также со значением k_{off} , равным 10^{-5} c^{-1} или менее, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или менее, 10^{-2} c^{-1} или менее, или 10^{-1} c^{-1} или менее, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. В

например, при 25 °C или 37 °C, и со значением k_{on} , равным $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. В некоторых таких вариантах осуществления Ab может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее со значением K_D , равным 10^{-10} M или менее, а также со значением k_{off} , равным 10^{-5} c^{-1} или менее, 10^{-4} c^{-1} или менее, 10^{-3} c^{-1} или менее, 10^{-2} c^{-1} или менее, или 10^{-1} c^{-1} или менее, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C, и со значением k_{on} , равным $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ или выше, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C.

Как отмечено также выше, в некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления белок VISTA-ECD представляет собой hVISTA-ECD или является частью hVISTA-ECD, такой как, например, IgV-домен. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления Ab может специфически связываться с эпитопом, содержащим аминокислоты 20-95 из SEQ ID NO: 2. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления Ab может специфически связываться с эпитопом, содержащим аминокислоты 20-70 из SEQ ID NO: 2. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления Ab может специфически связываться с эпитопом, содержащим аминокислоты 35-95 из SEQ ID NO: 2. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления Ab может специфически связываться с эпитопом, содержащим аминокислоты 35-70 из SEQ ID NO: 2. В некоторых из вышеупомянутых вариантах осуществления эпитоп представляет собой трехмерный эпитоп, который содержит не только одну из указанных выше частей SEQ ID NO: 2 из остатков 20-95, 20-70, 35-95 или 35-70, но также другую часть SEQ ID NO: 2, такую как остатки 95-105 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с эпитопом hVISTA, с которым связывается Ab, описанное в WO2015/097536. Например, Ab может конкурировать или перекрестно конкурировать за связывание с hVISTA с Ab, раскрытым в WO2015/097536. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с конформационным эпитопом VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с конформационным эпитопом, который содержит остатки 103-111 из SEQ ID NO: 2 и 136-146 из SEQ ID NO: 2 для VISTA человека или присутствует в их пределах. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с конформационным эпитопом, который содержит остатки 24-36, 54-65 и 100-102 из SEQ ID NO: 2 для VISTA человека или присутствует в их пределах. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с конформационным эпитопом, который содержит аминокислотные остатки в петле FG

VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с полипептидом, содержащим аминокислотные остатки 35-127 и/или 37-125 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с полипептидом VISTA ECD или его частью, содержащей аминокислотные остатки 350-127 из SEQ ID NO: 2, но антитело не связывается или не связывается со сниженной аффинностью с полипептидом VISTA ECD или его частью, содержащей аминокислотную замену, где замена (1) представляет собой замену одного из следующих аминокислотных остатков: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 и SEQ ID NO: 2, или (2) представляет собой замену одного из следующих аминокислотных остатков: Y37, T39, R54, F62, Q63, H66, L115, V117, I119, S124 или E125. В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело имеет такие же характеристики связывания (или в значительной степени такие же характеристики связывания), что и антитело, описанное в настоящем документе, например, как указано в примерах и/или в формуле изобретения.

Некоторые из вышеуказанных антител могут проявлять дифференциальную аффинность связывания с белками VISTA-ECD в зависимости от pH. Определенные Abs, специфически связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или ниже, также специфически связывают белок VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном pH со сходным сродством (т.е. они представляют собой «ран связывающие вещества»). Например, некоторые такие Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее при pH 6,5 и pH 7,0 (при постоянной температуре, например, 25 °C или 37 °C), таким образом, что значение K_D при pH 6,5 находится в пределах 1,5-кратного значения K_D при pH 7,0. Некоторые такие Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при pH 6,5 и pH 7,0 (при постоянной температуре, например, 25 °C или 37 °C), таким образом, что значение K_D при pH 6,5 находится в пределах 1,5-кратного значения K_D при pH 7,0. Некоторые такие Abs могут связываться с hVISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при pH 6,5 и pH 7,0 (при постоянной температуре, например, 25 °C или 37 °C), таким образом, что значение K_D при pH 6,5 находится в пределах 1,5-кратного значения K_D при pH 7,0.

Некоторые Abs, специфически связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или ниже, могут связывать белок VISTA-ECD в нейтральных, физиологических и/или щелочных условиях с более низкой аффинностью («pH-чувствительные связывающие вещества» или «pH-чувствительные

Abs»). Некоторые Abs, специфически связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или ниже, могут иметь незначительное, например, почти неопределяемое связывание с белком VISTA-ECD в нейтральных, физиологических и/или щелочных условиях. Например, в некоторых вариантах осуществления Abs может связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при pH 6,5, и со значением K_D более 10^{-8} М при pH 7,0 и/или pH 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, при pH 6,5, и со значением K_D при pH 7,0 и/или pH 7,4, которое более чем в 1,5 раза выше, чем при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления обеспечено pH-чувствительное Ab, которое специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С). Например, в некоторых случаях Ab связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 и/или 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С).

В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{off} , которое в кислых условиях ниже, чем в нейтральных, физиологических или щелочных условиях. В некоторых вариантах осуществления обеспечено Ab, которое связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 1,5, 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз ниже при pH 6,5, чем значение k_{off} при pH 7,0 и/или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Другими словами, скорость диссоциации является более медленной при кислом pH, чем при нейтральном pH. Например, в некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD со скоростью k_{off} , которая по меньшей мере в 1,5, 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 и/или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления обеспечено Ab, которое связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 1,5, 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз ниже при pH 6,5, чем значение K_{off} при pH 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD со скоростью k_{off} , которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,4, как измерено,

например, при 25 °С или 37 °С. В некоторых вариантах осуществления обеспечено Ab, которое связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 1,5, 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз ниже при pH 6,0-6,5, чем k_{off} при pH 7,0-7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С.

В некоторых вариантах осуществления Ab, которое специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое выше в кислых условиях по сравнению с нейтральными, физиологическими или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления обеспечено Ab, которое связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз выше при pH 6,5, чем значение k_{on} при pH 7,0 и/или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, в некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2, 5, 10, 20, 50, 100 или 1000 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 и/или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С.

В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении pH, при котором протонирован по меньшей мере один остаток гистидина, например, His 98 в SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD при значении pH, при котором протонировано большинство остатков гистидина в ECD, которое, как ожидается, будет составлять pH 6,5 или менее, например, находиться в диапазоне от pH 6,0 до pH 6,5.

Также, настоящим документом охвачены Abs, которые специфически связываются с белком VISTA-ECD с аффинностью, которая выше при нейтральном, физиологическом или щелочном pH по сравнению с кислым pH, при условии, что аффинность связывания при кислом pH остается высокой. Например, Abs может связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при pH 6,5 и pH 7,0, даже при том, что Abs связываются со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз ниже при pH 7,0, чем при pH 6,5.

Также, настоящим документом охвачены Abs, которые обладают одним или несколькими из вышеуказанных свойств из этого раздела. Вышеуказанные свойства, такие как, в частности, K_D , k_{off} , k_{on} , специфические эпитопы, не должны рассматриваться по отдельности. Таким образом, Ab может связываться с эпитопом, содержащим одну из областей SEQ ID NO: 2, описанных выше, а также может обладать

рап-связывающими или рН-чувствительными или рН-селективными связывающими свойствами, как описано выше, о чем свидетельствует одно или несколько из вариантов поведения его K_D , k_{off} или k_{on} при различных значениях рН.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления Ab может представлять собой, например, антитело полной длины (т.е. содержащее тяжелую цепь полной длины (с С-концевым лизином или без него) и легкую цепь полной длины) или антигенсвязывающий фрагмент, такой как Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, (Fab')₂-фрагмент, scFv-фрагмент, Fv-фрагмент, или Ab может представлять собой химерное, гуманизованное или человеческое антитело, или Ab может представлять собой биспецифическое или мультиспецифическое антитело.

Определение того, насколько хорошо Ab связывается с белком VISTA-ECD при заданном рН, можно провести с использованием нескольких различных способов. Например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR), такого как анализы с использованием прибора BIACORE®. Иллюстративный анализ SPR включает захват одного или нескольких антител на сенсорном чипе CM4 с помощью иммобилизованного реагента захвата (например, с использованием набора для захвата Anti-Human Fc Capture, Biacore®, номер по каталогу GE Healthcare BR-1008-39 или набора Anti-Mouse Capture, Biacore®, номер по каталогу GE Healthcare BR-1008-39), и пропускание антигена VISTA в качестве аналита в сериях концентраций для определения кинетики связывания и аффинностей в рабочем буфере с желаемым рН. В одном варианте осуществления VISTA инжестировали при двух-пяти концентрациях в диапазоне от 0,1 нМ до 500 нМ (например, 0,1 нМ, 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 500 нМ) со скоростью потока 30 мкл/мин, временем ассоциации до четырех минут, и временем диссоциации до десяти минут. Между циклами связывания поверхность захвата регенерировали в соответствии с инструкциями производителя для соответствующего набора захвата. Все данные получали по двум показателям, используя эталонную проточную ячейку и холостую инъекцию. Данные с простой кинетикой 1:1 подгоняли к модели связывания Ленгмюра с массопереносом с использованием программного обеспечения для анализа данных Biacore® T200. Также, могут быть использованы методы SPR, описанные в примерах.

Аффинность Ab по отношению к полипептиду VISTA ECD может быть определена с использованием клеток, экспрессирующих на своей поверхности полипептид VISTA ECD, PSGL-1 или гепарансульфат, при этом способ включает проточную цитометрию, и при этом связывание Ab с клеткой, связывающей VISTA-

ECD, определяют при заданном pH, например, pH 6,5 или ниже. Иллюстративный анализ методом проточной цитометрии включает следующее: клетки 293Т или другие клетки, эктопически экспрессирующие hVISTA ECD, ресуспендировали в буфере, состоящем из HBSS + 1% BSA, доведенном до желаемого pH, например, pH 6,0 с помощью MES или pH 7,4 с помощью HEPES. Антитела (Abs) (например, человеческий IgG) против hVISTA серийно разводили из приблизительно 20 мкг/мл и инкубировали с ресуспендированными клетками в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки дважды промывали теми же буферами, поддерживая желаемое значение pH, например, pH 6,0 или 7,4, и инкубировали с флуорофор-конъюгированным вторичным антителом, которое распознает первичное антитело (например, человеческий IgG) и является стабильным при пониженном pH. Затем клетки промывали, как и ранее, и сразу же анализировали, без фиксации, на BD Fortessa или другом проточном цитометре. Аффинность Ab по отношению к полипептиду VISTA ECD может быть определена так, как описано в примерах.

В некоторых вариантах осуществления Abs, которые связываются с hVISTA, ECD, блокируют связывание hVISTA с его партнером по связыванию (например, рецептором VISTA), например, на клетках. Ингибирование или блокирование может составлять 100% или по меньшей мере 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75% или 50%. В некоторых вариантах осуществления Ab связывается с белком VISTA-ECD при кислом pH, например, pH 6,5 или ниже, и ингибирует связывание VISTA со своим партнером по связыванию по меньшей мере на 50%, например, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 7,0. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 6,8. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 6,3. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 6,0. В некоторых вариантах осуществления Ab

специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 5,8. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 5,3. В некоторых вариантах осуществления Ab специфически связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH ниже pH 5,0.

Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне от pH 5,0 до pH 7,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне от pH 5,0 до pH 6,5. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне от pH 5,0 до pH 6,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне от pH 5,5 до pH 7,0. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне от pH 5,5 до pH 6,5. Некоторые Abs специфически связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 6,0-6,5. Ингибирование связывания может быть определено так, как описано в примерах.

Партнером по связыванию с VISTA может являться PSGL-1, такой как человеческий PSGL-1. Последовательности изоформ PSGL-1 человека представлены в настоящем документе в виде SEQ ID NO: 3-10. VISTA связывается с PSGL-1 с сиалил-Льюис X или без него. Партнером по связыванию также могут быть гепарансульфат-протеоглики, например, присутствующие на некоторых клетках.

Ингибирование связывания с партнером по связыванию с VISTA может быть определено путем измерения ингибирования связывания VISTA (или VISTA ECD, или IgV-домена VISTA, или VISTA-положительных клеток) с клетками, с которыми

связывается VISTA, например, Т-клетками (например, CD4+ Т-клетками, CD8+ Т-клетками, активированными или нет), NK-клетками или другими клетками, с которыми связывается VISTA, в присутствии и в отсутствие антитела. Иллюстративным экспериментом, который может быть использован для определения, ингибирует ли антитело связывание VISTA с его партнером по связыванию или Т-клетками, экспрессирующими партнер по связыванию, является анализ методом проточной цитометрии, например, анализ, который включает следующее: мононуклеарные клетки периферической крови человека, полученные из донорской крови, лейкоцитарной пленки или leukopak, ресуспендировали в буфере, состоящем из HBSS + 1% BSA, доведенном до желаемого значения pH, например, pH 6,0 с помощью MES или pH 7,4 с помощью HEPES. Затем клетки инкубировали в течение 30 минут при 4 °C с 20 мкг/мл рекомбинантного химерного белка, состоящего из hVISTA ECD, слитого с человеческим IgG1 Fc (VISTA-Fc), и с различными концентрациями кандидатных блокирующих VISTA антител или контрольных антител. Затем клетки дважды промывали в тех же буферах, поддерживая желательное значение pH, например, pH при 6,0 или 7,4, и инкубировали дополнительно в течение 30 минут при 4 °C с флуорофор-конъюгированным вторичным антителом, которое распознает VISTA-Fc, но не кандидатными блокирующими антителами или контрольными антителами, и является стабильным при пониженном pH. Затем клетки промывали, как и ранее, и сразу же анализировали, без фиксации, на BD Fortessa или другом проточном цитометре. Ингибирование связывания может быть определено, например, как описано в примерах.

В конкретных вариантах осуществления Abs, описанные в настоящем документе, могут запускать или усиливать иммунный ответ, такой как антиген-специфический иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления Abs стимулируют активность Т-клеток, особенно при кислом pH, который обнаруживается в микроокружении опухоли. Стимуляцию активности Т-клеток можно измерить, например, в реакции смешанных лимфоцитов (MLR) или в анализе *in vitro* с антигенпрезентирующей клеткой (природной или искусственной) и Т-клетками. Стимуляция Т-клеточной активности также может быть измерена с использованием, например, анализа Jurkat, описанного в примерах. Стимуляция Т-клеточной активности также может быть измерена, как описано в других примерах в настоящем документе, например, путем измерения секреции IFN- γ из Т-клеток, при этом повышенная секреция IFN- γ указывает на стимуляцию Т-клеток. Также, можно измерить секрецию

других цитокинов из активированных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления измеряют сигнальную трансдукцию активированных Т-клеток, например, уровни NF- κ B, как описано, например, в примерах.

В конкретных вариантах осуществления Abs, описанные в настоящем документе, ингибируют клеточную адгезию, которая может быть измерена, как описано в примерах.

Активность анти-VISTA Abs также может быть продемонстрирована в анализах моноцитов, анализах ADCC и анализах ADCP, особенно при кислом pH, который обнаруживается в микроокружении опухоли.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA Abs ингибируют рост опухоли в модели опухоли, например, в модели опухоли с нокином (knock-in) VISTA человека.

Как показано в примерах, приведенных в настоящем документе, рециркуляция анти-VISTA Ab в эндосоме, например, для усиления фармакокинетических (PK) свойств, то есть периода полужизни, антитела, требует, чтобы анти-VISTA антитело связывалось с VISTA в кислых условиях. Таким образом, ожидается, что анти-VISTA Abs, которые связываются с VISTA при низком pH, например, при pH 6,5 или ниже, как описано далее в настоящем документе, будут иметь более длительный приемлемый период полужизни по сравнению с антителом к VISTA, которое не связывается с VISTA при кислом pH.

Иллюстративные антитела, связывающиеся с hVISTA-ECD

В настоящем документе обеспечены Abs, которые преимущественно связываются с hVISTA (ECD) при кислом pH (например, в кислых условиях) по сравнению с физиологическим pH или нейтральным pH.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит переменную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-

069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17. CDR1, CDR2 и CDR3 VH каждого из этих видов содержат аминокислотные положения 26-35 (VH CDR1), 50-66 (VH CDR2) и 99-110 (VH CDR3) последовательностей VH для каждого из вышеуказанных видов антител, представленных в таблице последовательностей ниже. CDR-области также подчеркнуты и выделены жирным шрифтом на каждой из последовательностей VH для вышеуказанных видов антител, представленных в таблице последовательностей ниже.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VH одного из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-

068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11) антитела, описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17. CDR1, CDR2 и CDR3 VL каждого из этих видов содержат аминокислотные положения 24-35 (VL CDR1), 51-57 (VL CDR2) и 90-98 (VL CDR3) последовательностей VL для каждого из вышеуказанных видов антител, представленных в таблице последовательностей ниже. CDR-области также подчеркнуты и выделены жирным шрифтом на каждой из этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из P1-061029 или P1-061015 или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-

068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1065333 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL из P1-061029 или P1-061015 или их потомства, такого как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D),

P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антителя, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать:

- (a) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH из P1-061029, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-061029;
- (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-061015, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-061015;
- (c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068757, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068757;
- (d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068759, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068759;
- (e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761;
- (f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068763, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068763;
- (g) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068765, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068765;
- (h) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767;
- (i) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068769, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068769;
- (j) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068771, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068771;
- (k) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068773, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068773;
- (l) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068775, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068775;
- (m) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069059, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069059;
- (n) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069061, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069061;
- (o) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069063, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-069063;

(gg) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A;

(hh) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_H100G и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_H100G;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N;

(jj) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A_E56N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D;

(ll) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E55A, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N_H100G, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_H100G, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E56N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E100fF, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E100ff;

(qq) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A_E100fF, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E55A_E100ff;

(rr) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_H100G_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E56N_E100fE;

(uu) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y;

(vv) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E55A, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E56N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E32Y, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_H100G, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_D102V, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 P1-068767_D52N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N;

(ccc) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_E55A, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A_D102V, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D102V, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D102V;

(fff) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A;

(ggg) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D D52N, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D D102V, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D D102V;

(iii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D;

(jjj) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D_E55A, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E100fF_D102V, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E55A_E100fE;

(mmm) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_E100fE, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E100fF, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E100ff;

(ooo) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D_E100fF, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-068767_E30D_E100ff;

(ppp) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из VISTA.4, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из VISTA.4;

(qqq) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из VISTA.4_VL_A64G, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-070976, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-070976;

(sss) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-071799, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-071799;

(ttt) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-071801, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-P1-071801;

(uuu) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-065333, и VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 из P1-065333.

И вновь, в приведенной ниже таблице последовательностей представлены последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей, и полноразмерные последовательности тяжелых и легких цепей антител, перечисленных выше, с константной областью тяжелой цепи IgG1.3 (если в таблице не указана другая константная область HC), и указаны положения их CDR1, CDR2 и CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL по аминокислотному остатку и с выделением жирным шрифтом и подчеркиванием CDR в каждой последовательности VH и VL. Так, например, CDR1 VH из P1-061029 содержит аминокислоты 26-35 из SEQ ID NO: 67, тогда как CDR2 VH содержит аминокислоты 50-66 из SEQ ID NO: 67, и CDR3 VH содержит аминокислоты 99-110 из SEQ ID NO: 67, и т.д., как отмечено путем выделения жирным шрифтом и подчеркивания аминокислот из SEQ ID NO: 67, показанной в таблице последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из анти-hVISTA Abs,

представленных в настоящем документе. Индивидуальные последовательности VH для конкретных видов антител, представленных в настоящем документе, перечислены в таблице последовательностей. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-061029 или P1-061015, или их потомства, такого как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, описанного в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR-областей VH любого из анти-hVISTA Abs, обеспеченных в настоящем документе, и содержит VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична VH любого из анти-hVISTA Abs, обеспеченных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей

мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, которая состоит из аминокислотной последовательности VH из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-

068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-

068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, из антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR-областей VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, и содержит VL, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VL из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела,

полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, описанного в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VL, которая состоит из аминокислотной последовательности VL из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, и содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных

в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-061029 или P1-061015 или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-061029 или P1-061015. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH и VL, содержащие аминокислотные последовательности VH и VL из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N,

P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF. В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат аминокислотные последовательности VH и VL из антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR-областей VH любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, а также CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR-областей VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, а также содержит VH и VL, каждая из которых по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична соответствующим VH и VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит все 6 CDR анти-hVISTA Ab, представленного в настоящем документе, а также содержит аминокислотные последовательности VH и VL, каждая из которых по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична соответствующим VH и VL анти-hVISTA Ab, таким как VH и VL из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-

068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH и VL, состоящие из аминокислотной последовательности VH и VL любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит VH и VL, каждая из которых состоит из аминокислотных последовательностей VH и VL из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные последовательности VH и VL, каждая,

состоит из аминокислотных последовательностей VH и VL антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17.

Анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-061029, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-061029;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-061015, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-061015;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068757, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068757;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068759, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068759;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761;

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068763, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068763;

(g) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068765, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068765;

(h) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767;

(i) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068769, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068769;

(j) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068771, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068771;

(k) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068773, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P-068773;

(l) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068775, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068775;

(m) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-069059, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-069059;

(ee) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068752, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068752;

(ff) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068754, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068754;

(gg) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E55A;

(hh) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_H100G, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_H100G;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E56N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E56N;

(jj) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E55A E56N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E55A E56N;

(kk) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D;

(ll) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E56N_H100G, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D_H100G, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D_E56N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E100fF;

(qq) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E55A_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_H100G_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E56N_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E56N_E100fE;

(uu) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E32Y, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E32Y;

(vv) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E32Y_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E32Y_E56N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E30D_E32Y, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E32Y_H100G, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_D52N_D102V, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_D52N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_D52N;

(ccc) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_D52N_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E55A_D102V, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_D102V, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_D102V;

(fff) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E55A;

(ggg) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E30D_D52N, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E30D_D102V, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E30D, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E30D;

(jjj) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E30D_E55A, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E100fF_D102V, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E55A_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_D52N_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E100fF; или

(ooo) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-068767_E30D_E100fF, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL из P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из VISTA.4, и VL, содержащую VL из VISTA.4;

(qqq) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из VISTA.4_VL_A64G, и VL, содержащий VL из VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-070976, и VL, содержащую VL из P1-070976;

(sss) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-071799, и VL, содержащую VL из P1-071799;

(ttt) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-071801, и VL, содержащую VL из P1-P1-071801;

(uuu) VH, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-065333, и VL, содержащую VL из P1-065333.

Анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-061029, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-061029, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-061029;

(b) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-061015, и VL, содержащую CDR-области в VL из P1-061015, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-061015;

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D;

(ll) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D_E55A, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E56N_H100G, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E56N_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D_H100G, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D_E56N, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E100fF;

(qq) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E55A_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_H100G_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_H100G_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E56N_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E56N_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E32Y, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E32Y, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E32Y;

(vv) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E32Y_E55A, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E32Y_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E32Y_E56N, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E32Y_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E30D_E32Y, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E30D_E32Y, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E32Y_H100G, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E32Y_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068761_E32Y_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_D52N_D102V, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_D52N_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_D52N, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_D52N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_D52N;

(ccc) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_D52N_E55A, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_D52N_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E55A_D102V, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E55A_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_D102V, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_D102V;

(fff) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E55A, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E55A;

(ggg) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E30D_D52N, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E30D_D52N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E30D_D102V, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E30D_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E30D, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E30D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E30D;

(jjj) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E30D_E55A, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, содержащий CDR VH VH P1-068767_E100fE_D102V и VL, содержащий CDR VL P1-068767_E100fF_D102V и аминокислотные последовательности VH и VL, которые составляют не менее 90%, не менее 91%, не менее 92%. по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичны VH и VL в P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E55A_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_D52N_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_D52N_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E100fF; или

(ooo) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-068767_E30D_E100fF, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-068767_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, содержащую CDR-области VH в VH из VISTA.4, и VL, содержащую CDR-области VL из VISTA.4, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из VISTA.4;

(qqq) VH, содержащую CDR-области VH в VH из VISTA.4_VL_A64G, и VL, содержащую CDR-области VL из VISTA.4_VL_A64G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-070976, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-070976, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-070976;

(sss) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-071799, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-071799, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-071799;

(ttt) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-071801, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-071801, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%,

по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-071801;

(iii) VH, содержащую CDR-области VH в VH из P1-065333, и VL, содержащую CDR-области VL из P1-065333, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL из P1-071799.

Анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-061029, и VL, состоящую из VL из P1-061029;

(b) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-061015, и VL, состоящую из VL из P1-061015;

(c) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068757, и VL, состоящую из VL из P1-068757;

(d) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068759, и VL, состоящую из VL из P1-068759;

(e) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761, и VL, состоящую из VL из P1-068761;

(f) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068763, и VL, состоящую из VL из P1-068763;

(g) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068765, и VL, состоящую из VL из P1-068765;

(h) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767, и VL, состоящую из VL из P1-068767;

(i) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068769, и VL, состоящую из VL из P1-068769;

(j) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068771, и VL, состоящую из VL из P1-068771;

(k) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068773, и VL, состоящую из VL из P1-068773;

(l) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068775, и VL, состоящую из VL из P1-068775;

(m) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069059, и VL, состоящую из VL из P1-069059;

(n) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069061, и VL, состоящую из VL из P1-069061;

(o) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069063, и VL, состоящую из VL из P1-069063;

(p) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069065, и VL, состоящую из VL из P1-069065;

(q) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069067, и VL, состоящую из VL из P1-069067;

(r) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069069, и VL, состоящую из VL из P1-069069;

(s) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069071, и VL, состоящую из VL из P1-069071;

(t) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069073, и VL, состоящую из VL из P1-069073;

(u) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069075, и VL, состоящую из VL из P1-069075;

(v) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-069077, и VL, состоящую из VL из P1-069077;

(w) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068736, и VL, состоящую из VL из P1-068736;

(x) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068738, и VL, состоящую из VL из P1-068738;

(y) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068740, и VL, состоящую из VL из P1-068740;

(z) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068742, и VL, состоящую из VL из P1-068742;

(aa) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068744, и VL, состоящую из VL из P1-068744;

(bb) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068746, и VL, состоящую из VL из P1-068746;

(cc) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068748 и VL, состоящую из VL из P1-068748;

(dd) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068750, и VL, состоящую из VL из P1-068750;

(ee) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068752 и VL, состоящую из VL из P1-068752;

(ff) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068754, и VL, состоящую из VL из P1-068754;

(gg) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E55A;

(hh) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_H100G;

(ii) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E56N;

(jj) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E55A E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E30D;

(ll) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E56N_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности из VL P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности из VL P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E100fF;

(qq) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E55A_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_H100G_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E56N_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E32Y, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E32Y;

(vv) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E32Y_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E32Y_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E30D_E32Y, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E32Y_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_D52N_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_D52N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_D52N;

(ccc) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_D52N_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E55A_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_D102V;

(fff) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E55A;

(ggg) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E30D_D52N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E30D_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E30D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E30D;

(jjj) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E30D_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E100fF_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E100fF_D102V;

(III) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E55A_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E100fF; или

(ooo) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH из P1-068767_E30D_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL из P1-068767_E30D_E100fF.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA Ab содержит любую из переменных областей и/или CDR 1-3 переменных областей антител, описанных выше и в других местах в настоящем документе, например:

(1) одну или несколько CDR1, CDR2 и CDR3 VH из:

(2) CDR1, CDR2 и CDR3 VH из:

(3) VH из:

(4) одну или несколько CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и одну или несколько CDR1, CDR2 и CDR3 VL из:

(5) CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL из:

или

(6) VH и VL из:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-

068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, описанного в примере 17; и анти-VISTA Ab также представляет собой антитело IgG, такое как антитело IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, или его модифицированную форму, как описано в разделе ниже. В некоторых вариантах осуществления константная область обладает эффекторной функцией, и в некоторых вариантах осуществления константная область не обладает эффекторной функцией. В некоторых вариантах осуществления константная область представляет собой константную область IgG1.3.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA Ab содержит любую из переменных областей и/или CDR 1-3 переменных областей антител, описанных выше и в других местах в настоящем документе, например:

(1) одну или несколько из CDR1, CDR2 и CDR3 VH из:

(2) CDR1, CDR2 и CDR3 VH из:

(3) VH из:

(4) одну или несколько из CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и одну или несколько из CDR1, CDR2 и CDR3 VL из:

(5) CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL из:

или

(6) VH и VL из:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-

068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, или антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4_VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17;

и дополнительно обладает одной или несколькими из следующих характеристик:

- специфическое связывание с hVISTA, например, богатой гистидином областью ECD или полипептидом, содержащим аминокислотные остатки 35-127 из SEQ ID NO: 2, при кислом pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- отсутствие значительного связывания с hVISTA, например, богатой гистидином областью ECD или полипептидом, содержащим аминокислотные остатки 35-127 из SEQ ID NO: 2, при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- специфическое связывание с Суно VISTA, например, богатой гистидином областью ECD при кислом pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- отсутствие значительного связывания с Суно VISTA, например, богатой гистидином областью ECD при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- пониженное связывание с hVISTA-ECD, имеющим замену в одной или нескольких из следующих аминокислот: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 по сравнению с hVISTA ECD, имеющим SEQ ID NO: 2;

- перекрестная конкуренция за связывание с hVISTA с P1-061029, P1-068761, P1-068767 и/или P1-061015;

- ингибирование связывания hVISTA с Т-клетками человека, экспрессирующими VISTA (например, нативными или активированными Т-клетками), при кислом рН, например, рН 6,0 или рН 6,5;
- ингибирование связывания hVISTA с PSGL-1 с сиалил-Льюис X или без него при кислом рН, например, рН 6,0 или рН 6,5 (например, ингибирование взаимодействия между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1), где PSGL-1 несет сиалил-Льюис X или нет, и где тирозины предпочтительно представляют собой сульфотирозины);
- среднее время удержания (MRT) составляет по меньшей мере 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 или 700 часов (например, по меньшей мере 350 часов) у яванских макаков, измеренное, например, как описано в примерах;
- стимуляция Т-клеточной активации путем, например, усиления Т-клеточной пролиферации; усиления продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF- κ B;
- ингибирование опосредованной VISTA межклеточной адгезии;
- специфическое связывание с hVISTA в образцах опухолевых клеток человека или образцах воспаленных тканей человека, которые экспрессируют VISTA;
- контактирование с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;
- связывание с Областью 1: ${}^{57}\text{LGPVVDKGHDVTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Областью 2: ${}^{86}\text{RRPIRNLTFQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и Областью 3: ${}^{148}\text{VVEIRHHHSEHRVHGAME}_{165}$ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и необязательно при этом связывание является наиболее сильным с Областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;
- связывание с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;
- контактирование (i) H121, H122 и/или H123, или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстремов (\AA) или менее), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;

- контактирование hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;

- низкие или необнаруживаемые уровни TMDD;
- низкие или необнаруживаемые уровни нейтропении; и
- любые дополнительные характеристики, изложенные в формуле изобретения и/или в примерах.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи любого из анти-hVISTA Abs, обеспеченных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, как показано ниже в таблице последовательностей, содержащих константную область тяжелой цепи IgG1.3, такую как P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3,

P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3 или P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17, необязательно содержащего константную область тяжелой цепи IgG1.3.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе, которые содержат константную область тяжелой цепи IgG1.3 и аминокислотную последовательность легкой цепи любого из анти-hVISTA Abs, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность VH из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, которые содержат константную область IgG1.3 HC, такую как P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-

068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3 или P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-061029 или P1-061015. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17 как антитело IgG1.3, и легкую цепь того же антитела.

Анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-061015.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-061015;

(c) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068757.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068757;

(d) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068759.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068759;

(e) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068761.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068761;

(f) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068763.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068763;

(jjj) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_E100fE_D102V;

(lll) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_E100fF; или

(ooo) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность тяжелой цепи из P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи из P1-068767_E30D_E100fF.

Анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC P1-061029, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из P1-061029, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-061029.IgG1.3, соответственно;

(b) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-061015, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-061015, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-061015.IgG1.3, соответственно;

(c) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068757, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068757, и аминокислотные последовательности HC и LC,

меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068752.IgG1.3, соответственно;

(ff) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068754, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068754, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068754.IgG1.3, соответственно;

(gg) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E55A.IgG1.3, соответственно;

(hh) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_H100G.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_H100G.IgG1.3, соответственно;

(ii) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E56N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E56N.IgG1.3, соответственно;

(jj) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E55A_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E55A_E56N .IgG1.3, соответственно;

(kk) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D.IgG1.3, соответственно;

(ll) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D_E55A .IgG1.3, соответственно;

(mm) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E56N_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E56N_H100G .IgG1.3, соответственно;

(nn) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, соответственно;

(oo) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по

меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D_E56N .IgG1.3, соответственно;

(pp) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(qq) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E55A_E100fF .IgG1.3, соответственно;

(rr) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_H100G_E100fE.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_H100G_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_H100G_E100fF .IgG1.3, соответственно;

(ss) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D_E100fE.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D_E100fE .IgG1.3, соответственно;

(tt) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E56N_E100fE.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E56N_E100fE, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на

91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E56N_E100fE .IgG1.3, соответственно;

(uu) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E32Y.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E32Y, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E32Y .IgG1.3, соответственно;

(vv) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E32Y_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, соответственно;

(ww) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E32Y_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E32Y_E56N .IgG1.3, соответственно;

(xx) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E30D_E32Y, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E30D_E32Y .IgG1.3, соответственно;

(yy) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E32Y_H100G, и аминокислотные

последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, соответственно;

(zz) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068761_E32Y_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(aaa) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_D52N_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, соответственно;

(bbb) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_D52N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_D52N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D52N.IgG1.3, соответственно;

(ccc) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_D52N_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, соответственно;

(ddd) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E55A_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E55A_D102V .IgG1.3, соответственно;

(eee) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_D102V.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D102V.IgG1.3, соответственно;

(fff) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E55A .IgG1.3, соответственно;

(ggg) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E30D D52N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, соответственно;

(hhh) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E30D D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, соответственно;

(iii) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E30D.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E30D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E30D.IgG1.3, соответственно;

(jjj) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, соответственно;

(kkk) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E100fF_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, соответственно;

(lll) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(mmm) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_D52N_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, соответственно;

мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(nnn) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(ooo) HC, содержащую CDR-области HC из HC P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и LC, содержащую CDR-области LC из P1-068767_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(ppp) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC VISTA.4, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из VISTA.4, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из VISTA.4.IgG1.3, соответственно;

(qqq) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC VISTA.4_VL_A64G, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из VISTA.4_VL_A64G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из VISTA.4_VL_A64G.IgG1.3, соответственно;

(rrr) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC P1-070976, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из P1-070976, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на

91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-070976.IgG1.3, соответственно;

(sss) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC P1-071799, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из P1-071799, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-071799.IgG1.3, соответственно;

(ttt) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC P1-071801, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из P1-071801, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-071801.IgG1.3, соответственно; или же

(uuu) тяжелую цепь (HC), содержащую CDR-области HC из HC P1-065333, и легкую цепь (LC), содержащую CDR-области LC из P1-065333, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC из P1-065333.IgG1.3, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать:

(a) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029;

(b) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061015.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fE; или

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем раскрытии рассматриваются анти-VISTA mAbs, содержащие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей тяжелой цепи от (a) до (uuu), перечисленных выше, за которыми следует остаток Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей легкой цепи от (a) до (iii), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи выбраны из тех же видов антител из (a) - (iii), перечисленных выше.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность VH видов антител, указанных в настоящем документе, но вместо константной области тяжелой цепи IgG1.3, как предусмотрено в последовательностях HC в таблице последовательностей в настоящем документе (и см. SEQ ID NO: 163), это антитело может содержать последовательность другой константной области тяжелой цепи, такой как константная область IgG1 дикого типа человека, такая как аллотип f человеческого IgG1 (IgG1f) (SEQ ID NO: 182), или модифицированная константная область человеческого IgG1, такая как IgG1.1f (SEQ ID NO: 183), или модифицированная константная область человеческого IgG1, такая как IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184). Соответственно, варианты осуществления данного раскрытия включают антитела против VISTA, содержащие:

(a) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fE;

(uu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую

цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1 - 068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA. 4;

(qqq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA. 4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-070976 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-070976;

(sss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071799 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-071799;

(ttt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071801 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-071801; или

(uuu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-065333 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-065333.

Некоторые варианты осуществления данного раскрытия включают анти-VISTA Abs, содержащие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-061015 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068757 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068759 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068763 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068765 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100ff и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO:

182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100ff и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH из VISTA.4 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-070976 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-070976;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071799 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071799;

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071801 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071801; или

(uuu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-065333 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-065333,

где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 182 образуют пептидную связь.

В некоторых вариантах осуществления раскрытие предусматривает анти-VISTA mAbs, содержащие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей (i) VH из (a) - (ooo), перечисленных выше, (ii) SEQ ID NO: 182, и (iii) остатка Lys, где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота из SEQ ID NO: 182 образуют пептидную связь, и где С-концевая аминокислота из SEQ ID NO: 182 присоединена к N-концу Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи из (a) - (ooo), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из одного и того же вида антител из (a) - (ooo), перечисленных выше.

Некоторые варианты осуществления данного раскрытия включают анти-VISTA Abs, содержащие:

(a) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH из P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068763 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068765 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(mm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелая цепь, содержащая (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую

цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fE_D102V;

(lll) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fE;

(mmm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA. 4;

(qqq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA.4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-070976 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-070976;

(sss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071799 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-071799;

(ttt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071801 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1- 071801; или

(uuu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-065333 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-065333.

Некоторые варианты осуществления данного раскрытия включают анти-VISTA Abs, содержащие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-061015 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068757 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068759 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068763 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068765 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068769 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068771 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068771;

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую

цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF,

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH VISTA.4 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-070976 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-070976;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071799 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071799;

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071801 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071801; или

(uuu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-065333 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-065333,

где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 образуют пептидную связь.

В некоторых вариантах осуществления в раскрытии рассматриваются анти-VISTA mAbs, содержащие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей (i) VH из (a) - (ooo), перечисленных выше, (ii) SEQ ID NO: 183, и (iii) остатка Lys, где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 образуют пептидную связь, и где С-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 соединена с N-концом Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи из (a) - (ooo), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из одного и того же вида антител из числа (а) - (ooo), перечисленных выше.

Дополнительные варианты осуществления данного раскрытия включают анти-VISTA Abs, содержащие:

(a) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068763 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068765 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068769 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068769;

(ff) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068754 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1 - 068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fE;

(ss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fE;

(mmm) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100ff и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA. 4;

(qqq) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи VISTA.4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-070976 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1- 070976;

(sss) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071799 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1- 071799;

(ttt) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-071801 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1- 071801; или

(uuu) тяжелую цепь, содержащую (i) аминокислотную последовательность VH P1-065333 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность легкой цепи P1- 065333.

Еще дополнительные варианты данного раскрытия включают анти-VISTA Abs, содержащие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184 и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fE;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100ff;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fE;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fE;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fE_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF,

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH из VISTA.4 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH VISTA.4_VL_A64 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи VISTA.4_VL_A64;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-070976 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-070976;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071799 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071799;

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-071801 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-071801; или

(uuu) тяжелую цепь, состоящую из (i) аминокислотной последовательности VH P1-065333 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-065333,

где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 образуют пептидную связь.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотные последовательности HC и LC антитела содержат аминокислотные последовательности HC и LC антитела, полученного из VISTA.4 (также известного как 41F11), описанного в таблицах 22-30 из примера 17, такого как VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) или P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), или другого антитела, раскрытого в примере 17, где константная область тяжелой цепи происходит из IgG1.3, IgG1, IgG1.1f, IgG4, IgG4 S228P (нумерация ЕС), или содержит аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 182, 183 или 184. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по

меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности P1-070976 или содержит аминокислотную последовательность VH из P1-070976, но для 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, таких как консервативные или реверсивные замены. В некоторых таких вариантах осуществления антитело сохраняет CDR-области VH и CDR-области VL антитела P1-070976, таким образом, что все различия в последовательности VH ограничиваются каркасными областями VH. В некоторых вариантах осуществления VH представляет собой VH P1-070976, но содержит одну или обе из реверсивных замен H95D и E97P. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VL, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности P1-070976 или содержат аминокислотную последовательность VL P1-070976, P1-071799 или P1-071801, но для 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, таких как консервативные или реверсивные замены. В некоторых таких вариантах осуществления антитело сохраняет CDR-области VH и CDR-области VL антитела P1-070976 таким образом, что все различия в последовательности VL ограничиваются каркасными областями VL.

В некоторых вариантах осуществления в раскрытии рассматриваются анти-VISTA mAbs, содержащие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей (i) VH из (a) - (ooo), перечисленных выше, (ii) SEQ ID NO: 184, и (iii) остатка Lys, где С-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 образуют пептидную связь, и где С-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 присоединена к N-концу Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи из (a) - (ooo), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из одних и тех же видов антител из (a) - (ooo), перечисленных выше.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична

аминокислотной последовательности P1-061029, где антитело содержит CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из P1-061029, где по меньшей мере один остаток заменен на D, E или H. В некоторых вариантах осуществления каждая из CDR1, CDR2 и CDR3 VH из P1-061029 содержит один, два или три остатка, замененных на D, E или H. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности P1-061029, где антитело содержит CDR1 VH, содержащую один или два остатка D или E в аминокислотных положениях 4, 5 или 7 CDR1, и/или содержит CDR2 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 3, 5, 6 или 7 CDR2, и/или CDR3 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 6, 12 или 14 CDR 3. (См. ниже таблицу 5, содержащую примеры антител, входящих в эти варианты осуществления.) В таких случаях переменная область легкой цепи может содержать CDR1, CDR2 и/или CDR3 из P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF, и/или переменная область легкой цепи может быть по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по

меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична таковой P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности P1-061015, где антитело содержит CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из P1-061015, в котором по меньшей мере один остаток был заменен на D, E или H. В некоторых вариантах осуществления каждая из CDR1, CDR2 и CDR3 VH из P1-061015 содержит один, два или три остатка, замененных на D, E или H. В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности P1-061015, где антитело содержит CDR1 VH, содержащую один или два остатка D, E или H в аминокислотных положениях 6, 7, 8 и 9 CDR1, и/или содержит CDR2 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в

положениях 1, 2, 4 или 8-11 CDR2, и/или CDR3 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 2, 3, 6, 7 или 12 CDR 3. (См. ниже таблицу 6, содержащую примеры антител, входящих в эти варианты осуществления). В таких случаях переменная область легкой цепи может содержать CDR1, CDR2 и/или CDR3 P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF, и/или переменная область легкой цепи может быть по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична таковой P1-061029 или P1-061015, или их потомков, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-

068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF или P1-068767_E30D_E100fF.

В некоторых вариантах осуществления анти-hVISTA Ab может содержать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VISTA.4, где антитело содержит CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из VISTA.4, в котором по меньшей мере один остаток был заменен на D, E или H. В некоторых вариантах осуществления каждая из CDR1, CDR2 и CDR3 VH из VISTA.4 содержит один, два или три остатка, замененных на D, E или H. В таких случаях переменная область легкой цепи может содержать CDR1, CDR2 и/или CDR3 VISTA.4 или VISTA.4 A64G, и/или переменная область легкой цепи может быть по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична таковой VISTA.4 или VISTA.4 A64G. Такие антитела являются примерами потомков VISTA.4.

В некоторых вариантах осуществления такое модифицированное анти-hVISTA антитело P1-061029 или P1-061015, или потомки VISTA.4 обладает одной или несколькими из следующих характеристик:

- специфическое связывание с hVISTA, например, богатой гистидином областью ECD или полипептидом, содержащим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при кислом pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;
- отсутствие значительного связывания с hVISTA, например, богатой гистидином областью ECD или полипептидом, содержащим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при физиологическом или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;
- специфическое связывание с Суно VISTA, например, богатой гистидином областью ECD, при кислом pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- отсутствие значительного связывания с Суно VISTA, например, богатой гистидином областью ECD, при физиологическом рН или нейтральном рН, например, рН 7,4 или рН 7,0;
- пониженное связывание с hVISTA-ECD, имеющим замену в одной или нескольких из следующих аминокислот: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 относительно hVISTA ECD, имеющего SEQ ID NO: 2;
- перекрестная конкуренция за связывание с hVISTA с P1-061029, P1-068761, P1-068767 и/или P1-061015;
- ингибирование связывания hVISTA с человеческими Т-клетками, экспрессирующими VISTA (например, нативными или активированными Т-клетками) при кислом рН, например, рН 6,0 или рН 6,5;
- ингибирование связывания hVISTA с PSGL-1 с сиалил-Льюис X или без него при кислом рН, например, рН 6,0 или рН 6,5 (например, ингибирование взаимодействия между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1), где PSGL-1 содержит или не содержит сиалил-Льюис X, и тирозины предпочтительно представляют собой сульфотирозины;
- среднее время удержания (MRT) составляет по меньшей мере 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 или 700 часов у яванских макак (например, по меньшей мере 350 часов), измеренное, например, как описано в примерах;
- низкие или неопределяемые уровни TMDD;
- низкие или неопределяемые уровни нейтропении;
- стимуляция Т-клеточной активации, например, путем усиления Т-клеточной пролиферации; усиления продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF- κ B;
- ингибирование опосредованной VISTA межклеточной адгезии; и
- специфическое связывание с hVISTA в образцах опухолевых клеток человека или образцах воспаленных тканей человека, которые экспрессируют VISTA;
- контактирование с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

- связывание с Областью 1: ${}_{57}\text{LGPVDKGHDVTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Областью 2: ${}_{86}\text{RRPIRNLTQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и Областью 3: ${}_{148}\text{VVEIRHHHSEHRVHGAME}_{165}$ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и необязательно при этом связывание является наиболее сильным с Областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;
- связывание с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;
- контактирование (i) H121, H122 и/или H123 или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстремов (\AA) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;
- контактирование hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;
- и любые дополнительные характеристики, изложенные в формуле изобретения и/или в примерах.

Константные области иллюстративных антител

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека относится к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область человеческого IgG, такого как IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит мутацию S241P в константной области человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область человеческого IgG4 и легкую к-цепь человека.

Выбор константной области тяжелой цепи может определять, будет ли антитело обладать эффекторной функцией *in vivo*. Такая эффекторная функция в некоторых вариантах осуществления включает антитело-зависимую клеточно-опосредованную

цитотоксичность (ADCC) и/или комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), и может привести к уничтожению клетки, с которой связано антитело. В некоторых способах лечения, включая способы лечения некоторых видов рака, может быть желательно уничтожение клеток, например, когда антитело связывается с клеткой, которая поддерживает существование или рост опухоли. Примеры клеток, которые могут поддерживать существование или рост опухоли, включают, но без ограничения, сами опухолевые клетки, клетки, которые способствуют вовлечению сосудистой сети в опухоль, и клетки, которые обеспечивают лиганды, факторы роста или контррецепторы, которые поддерживают или способствуют росту опухоли или выживанию опухоли. В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело, содержащее тяжелую цепь IgG1 человека или тяжелую цепь IgG3 человека.

В некоторых вариантах осуществления антитело, обеспеченное в настоящем документе, изменено для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела. Добавление сайтов гликозилирования к антителу или делецию сайтов гликозилирования из антитела обычно осуществляют, изменяя аминокислотную последовательность таким образом, чтобы создать или удалить один или более сайтов гликозилирования.

Если антитело содержит Fc-область, присоединенный к ней углевод может быть изменен. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, обычно содержат разветвленный биантенный олигосахарид, который, как правило, соединен посредством N-связи с остатком Asn297 домена CH2 области Fc. См., например, Wright *et al. TIBTECH* 15:26-32 (1997). Олигосахарид может включать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стержне» биантенной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах осуществления могут быть произведены модификации олигосахарида в антителе по изобретению для получения антител с определенными улучшенными свойствами. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело может быть афукозилировано, например, путем мутации остатков, таких как Asn297, которые обычно гликозилированы с помощью содержащих фукозу гликозилираний, или другими способами. В некоторых вариантах осуществления антитела в настоящем документе могут содержать константную область афукозилированного человеческого IgG1.

Помимо этого, обеспечены антитела с олигосахаридами, разветвленными на две части, *например*, в которых биантенный олигосахарид, связанный с Fc-областью антитела, является разветвленным на две части за счет GlcNAc. Такие антитела могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию ADCC. Примеры таких антител описаны, *например*, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*); патенте США 6602684 (Umana *et al.*); и US 2005/0123546 (Umana *et al.*). Также, обеспечены антитела по меньшей мере с одним остатком галактозы в олигосахариде, связанном с Fc-областью. Такие антитела могут иметь улучшенную функцию CDC. Такие антитела описаны, *например*, в WO 1997/30087 (Patel *et al.*); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

Также, обеспечены антитела с амино-концевыми лидерными удлинениями. Например, один или несколько аминокислотных остатков амино-концевой лидерной последовательности присутствуют на амино-конце любой одной или нескольких тяжелых или легких цепей антитела. В качестве примера, амино-концевое лидерное удлинение содержит или состоит из трех аминокислотных остатков, VHS, присутствующих на одной или обеих легких цепях антитела.

Уровень связывания с FcRn человека *in vivo* или время полужизни в сыворотке полипептидов, обладающих высокой аффинностью связывания с FcRn человека, могут быть проанализированы, *например*, на трансгенных мышах, людях или приматах, не относящихся к человеку, которым вводили полипептиды с вариантом Fc-области. См. также, *например*, Petkova *et al. International Immunology* 18(12):1759-1769 (2006).

В некоторых вариантах осуществления изобретения афукозилированное антитело опосредует ADCC в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно, чем родительское антитело, которое содержит фукозу. Как правило, активность ADCC может быть определена с использованием анализа ADCC *in vitro*, как раскрыто в настоящем документе, но предусматриваются другие анализы или способы для определения активности ADCC, *например*, в животной модели и т.д.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область изменяют путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка на другой аминокислотный остаток для того, чтобы изменить эффекторную функцию(и) антитела. Например, одну или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 и/или 331, можно заменять на другой аминокислотный остаток так, чтобы антитело имело измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохраняло антигенсвязывающую способность родительского антитела. Эффекторный

лиганд, аффинность к которому изменяют, может представлять собой, например, Fc рецептор или C1 компонент комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США 5624821 и 5648260, оба Winter *et al.*

В некоторых примерах одну или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322, можно заменять на другой аминокислотный остаток так, чтобы антитело обладало измененным связыванием C1q и/или сниженной или устраненной комплемент-зависимой цитотоксичностью (CDC). Этот подход описан более подробно в патенте США 6194551, Idusogie *et al.*

В некоторых примерах один или несколько аминокислотных остатков в аминокислотных положениях 231 и 239 изменяют для того, чтобы тем самым изменить способность антитела связывать комплемент. Этот подход дополнительно описан в публикации PCT WO 94/29351, Bodmer *et al.* В некоторых примерах Fc-область может быть модифицирована для снижения антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или для уменьшения аффинности к рецептору Fcγ посредством модификации одной или нескольких аминокислот в следующих положениях: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 или 439. Иллюстративные замены включают 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D и 332E. Иллюстративные варианты включают 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T и 267E/268F/324T. Другие модификации Fc, которые могут быть внесены в Fcs, представляют собой модификации, которые предназначены для уменьшения или отмены связывания с FcγR и/или белками комплемента, тем самым уменьшая или отменяя Fc-опосредованные эффекторные функции, такие как ADCC, ADCP и CDC. Иллюстративные модификации включают, но без ограничения, замены, вставки и делеции в положениях 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 и/или 331 (*например*, 330 и 331), где нумерация соответствует индексу ЕС. Иллюстративные замены включают, но без ограничения, 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S и 331S (*например*, 330S и 331S), при этом нумерация соответствует индексу ЕС. Вариант Fc может содержать 236R/328R. Другие модификации для уменьшения взаимодействий FcγR и комплемента включают замены

297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331 S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P и 234V, а также удаление гликозилирования в положении 297 с помощью мутационных или ферментативных средств или путем продуцирования в организмах, таких как бактерии, которые не гликозилируют белки. Эти и другие модификации рассматриваются в Strohl, 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691. Например, константная Fc-область человеческого IgG1.3 содержит замены L234A, L235E и G237A. IgG1fa.P238K (или IgG1.P238K) содержит замену P238K. IgG1.1f содержит замены L234A, L235E, G237A, A330S и P331S.

Также, могут быть использованы варианты Fc, которые усиливают аффинность к ингибирующему рецептору FcγRIIb. Такие варианты могут обеспечивать белок Fc-слияния с иммуномодулирующей активностью, связанной с клетками FcγRIIb, включая, например, В-клетки и моноциты. В одном варианте осуществления варианты Fc обеспечивают селективно усиленную аффинность к FcγRIIb по сравнению с одним или несколькими активирующими рецепторами. Модификации для изменения связывания с FcγRIIb включают одну или несколько модификаций в положении, выбранном из группы, состоящей из 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328, 330, 331 и 332, в соответствии с индексом ЕС. Примеры замен для повышения аффинности к FcγRIIb включают, но без ограничения, 234A, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235E, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237A, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y, 330S, 331S и 332E. Примеры замен включают 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W и 328Y. Другие варианты Fc для усиления связывания с FcγRIIb включают 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E и 267E/328F.

Другие модификации для усиления взаимодействий FcγR и комплемента включают, но без ограничения, замены 298 A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051 и 396L. Эти и другие модификации рассмотрены в Strohl, 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20: 685-691. Модификации Fc, которые увеличивают связывание с рецептором Fcγ, включают модификации аминокислот в любом одном или нескольких положениях аминокислот 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439 области Fc, где нумерация остатков в Fc-области соответствует индексу ЕС, как в патентной публикации WO 00/42072.

Необязательно, Fc-область может содержать не встречающийся в природе аминокислотный остаток в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в данной области (см., *например*, патенты США 5624821; 6277375; 6737056; 6,194,551; 7,317,091; 8,101,720); патентные публикации РСХ WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 и WO 06/0201 14).

Аффинности и связывающие свойства Fc-области по отношению к ее лиганду могут быть определены с помощью различных методов исследования *in vitro* (биохимических или иммунологических), известных в данной области, включая, но без ограничения, равновесные методы (*например*, ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA) или радиоиммунологический анализ (RIA)), или кинетические методы (*например*, анализ BIACORE) и другие методы, такие как непрямые методы исследования связывания, исследования конкурентного ингибирования, метод резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET), гель-электрофорез и хроматография (*например*, гель-фильтрацию). В этих и других способах можно осуществлять мечение одного или нескольких исследуемых компонентов и/или использовать различные способы детекции, включая, но без ограничения, хромогенные, флуоресцентные, люминесцентные или изотопные метки. Подробное описание аффинности и кинетики связывания приведено в книге Paul, W. E., ed., *Fundamental immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), которая сфокусирована на взаимодействиях антитело-иммуноген.

В некоторых вариантах осуществления антитело модифицируют для того, чтобы увеличить его биологическое время полужизни. Возможны различные подходы. Например, это можно сделать путем увеличения аффинности связывания области Fc с FcRn. Например, один или несколько из следующих остатков могут быть мутированы: 252, 254, 256, 433, 435, 436, как описано в патенте США 6277375. Конкретные иллюстративные замены включают одну или несколько из следующих: T252L, T254S и/или T256F. Альтернативно, для увеличения биологического времени полужизни антитело можно изменить внутри области CH1 или CL, чтобы оно содержало эпитоп связывания рецептора спасения, заимствованный из двух петель домена CH2 Fc-области IgG, как описано в патентах США 5869046 и 6121022, *Presta et al.* Другие иллюстративные варианты, которые увеличивают связывание с FcRn и/или улучшают фармакокинетические свойства, включают замены в положениях 259, 308, 428 и 434,

включая, например, 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434I, 434F, 434Y и 434X1. Другие варианты, которые увеличивают связывание Fc с FcRn, включают: 250E, 250Q, 428 L, 428F, 250Q/428L (Hinton *et al.* 2004, *J. Biol. Chem.* 279(8): 6213-6216, Hinton *et al.* 2006 *Journal of Immunology* 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 311A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields *et al.*, *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 311S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall'Acqua *et al.* *Journal of Immunology*, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua *et al.*, 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281:23514-23524). Другие модификации для модулирования связывания с FcRn описаны в Yeung *et al.*, 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671.

В некоторых вариантах осуществления можно использовать гибридные изотипы IgG с конкретными биологическими характеристиками. Например, гибридный вариант IgG1/IgG3 может быть сконструирован путем замены положений IgG1 в области CH2 и/или CH3 аминокислотами из IgG3 в положениях, где два изотипа различаются. Таким образом, можно сконструировать гибридный вариант антитела IgG, который содержит одну или несколько замен, *например*, 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R и 436F. В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, гибридный вариант IgG1/IgG2 может быть сконструирован путем замены положений IgG2 в области CH2 и/или CH3 на аминокислоты из IgG1 в положениях, в которых два изотипа различаются. Таким образом, можно сконструировать гибридный вариант антитела IgG, который содержит одну или несколько замен, *например*, одну или несколько из следующих аминокислотных замен: 233E, 234L, 235L, -236G (относящаяся к вставке глицина в положении 236) и 327A.

Кроме того, картированы сайты связывания на IgG1 человека для FcγRI, FcγRII, FcγRIII и FcRn, и описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, R.L. *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604). Показано, что конкретные мутации в положениях 256, 290, 298, 333, 334 и 339 улучшают связывание с FcγRIII. Кроме того, показано, что следующие комбинаторные мутанты улучшают связывание с FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A и S298A/E333A/K334A, которые, как было показано, проявляют повышенное связывание с FcγRIIIa и активность ADCC (Shields *et al.*, 2001). Были идентифицированы другие варианты IgG1 со значительно усиленным связыванием с FcγRIIIa, включая варианты с мутациями S239D/I332E и S239D/I332E/A330L, которые показали наибольшее увеличение аффинности к FcγRIIIa,

снижение связывания с FcγRIIb, и высокую цитотоксическую активность у яванских макаков (Lazar *et al.*, 2006). Введение тройных мутаций в антитела, такие как алемтузумаб (CD52-специфическое), трастузумаб (HER2/neu-специфическое), ритуксимаб (CD20-специфическое) и цетуксимаб (EGFR-специфическое), обеспечивало значительно усиленную активность ADCC *in vitro*, и вариант S239D/I332E показал повышенную способность истощать В-клетки у обезьян (Lazar *et al.*, 2006). Кроме того, идентифицированы мутанты IgG1, содержащие мутации L235V, F243L, R292P, Y300L и P396L, которые проявили повышенное связывание с FcγRIIIa и одновременно повышенную активность ADCC у трансгенных мышей, экспрессирующих FcγRIIIa человека в моделях В-клеточных злокачественных образований и рака молочной железы (Stavenhagen *et al.*, 2007; Nordstrom *et al.*, 2011). Другие мутанты Fc, которые можно использовать, включают: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L и M428L/N434S.

В некоторых вариантах осуществления выбирают Fc, который снижает связывание с FcγR. Типичный Fc, *например*, Fc IgG1, с пониженным связыванием FcγR содержит следующие три аминокислотные замены: L234A, L235E и G237A.

В некоторых вариантах осуществления выбран Fc, который имеет пониженную фиксацию комплемента. Иллюстративный Fc, *например*, Fc IgG1, с пониженной фиксацией комплемента имеет следующие две аминокислотные замены: A330S и P331S.

В некоторых вариантах осуществления выбирают Fc, который по существу не обладает эффекторной функцией, *т.е.* он имеет пониженное связывание с FcγR и пониженную фиксацию комплемента. Иллюстративный Fc, *например*, Fc IgG1, который не является эффекторным, содержит следующие пять мутаций: L234A, L235E, G237A, A330S и P331S.

При использовании константного домена IgG4 он может включать замену S228P, которая имитирует шарнирную последовательность в IgG1 и тем самым стабилизирует молекулы IgG4.

Также могут быть использованы модификации Fc, описанные в WO 2017/087678 или WO2016081746.

Можно использовать константную область, имеющую эффекторную функцию или лишенную эффекторной функции, когда переменные области антитела связываются с VISTA при кислом pH, но не при физиологическом pH, поскольку ожидается низкий уровень TMDD и отсутствие нейтропении. Однако для антител к

VISTA, которые предпочтительно не связываются с hVISTA при кислом pH по сравнению с физиологическим pH, предпочтительно использовать лишенную эффекторной функции константную область, например, IgG1.3, чтобы избежать высокого уровня TMDD и нейтропении.

В некоторых вариантах осуществления модифицируют гликозилирование антитела. Например, может быть получено агликозилированное антитело (т.е. антитело лишено гликозилирования). Гликозилирование может быть изменено, например, для увеличения аффинности антитела в отношении антигена. Такие углеводные модификации могут быть выполнены, например, путем изменения одного или нескольких сайтов гликозилирования в последовательности антитела. Например, могут быть произведены одна или несколько аминокислотных замен, которые приводят к элиминации одного или нескольких сайтов гликозилирования каркаса варибельной области, чтобы таким образом элиминировать гликозилирование в данном сайте. Такое агликозилирование может увеличивать аффинность антитела в отношении антигена. Такой подход более подробно описан в патентах США 5714350 и 6350861, *Co et al.*

Гликозилирование константной области на N297 может быть предотвращено путем мутации остатка N297 на другой остаток, *например*, N297A, и/или путем мутации соседней аминокислоты, *например*, 298, чтобы тем самым уменьшить гликозилирование на N297.

Дополнительно или альтернативно может быть получено антитело, которое имеет измененный тип гликозилирования, например, гипофукозилированное антитело, имеющее уменьшенные количества остатков фукозила, или антитело, имеющее увеличенные разделяющие пополам структуры GlcNac. Было продемонстрировано, что такие измененные картины гликозилирования увеличивают ADCC-способность антител. Такие углеводные модификации могут быть выполнены, например, путем экспрессии антитела в клетке-хозяине с измененным механизмом гликозилирования. Клетки с измененным аппаратом гликозилирования были описаны в данной области и могут быть использованы в качестве клеток-хозяев для экспрессии в них рекомбинантных антител, описанных в настоящем документе, чтобы таким образом получить антитела с измененным гликозилированием. Например, в EP 1176195 Hanai *et al.* описана клеточная линия с функционально разрушенным геном FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу таким образом, что антитела, экспрессируемые в такой клеточной линии, проявляют гипофукозилирование. В публикации PCT WO 03/035835,

Presta, описан вариант клеточной линии CHO, клетки Led 3, с уменьшенной способностью присоединять фукозу к Asn(297)-связанным углеводам, что также приводит к гипофукозилации антител, экспрессируемых в этой клетке-хозяине (см. также Shields, R.L. *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740). В публикации PCT WO 99/54342, Umana *et al.*, описаны клеточные линии, сконструированные для экспрессии гликопротеин-модифицирующих гликозилтрансфераз (*например*, бета(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnTIII)) таким образом, что антитела, экспрессируемые в таких сконструированных клеточных линиях, проявляют увеличенное разделение на две половины структур GlcNac, что приводит к увеличенной активности ADCC антител (см. также Umana *et al.* (1999) *Nat. Biotech.* 17: 176-180).

Другой модификацией описанных в настоящем документе антител является пэгилирование. Антитело может быть пэгилировано, например, для увеличения биологического (*например*, в сыворотке) периода полужизни антитела. Для пэгилирования антитела данное антитело или его фрагмент обычно подвергают взаимодействию с полиэтиленгликолем (PEG), таким как реакционноспособное сложноэфирное или альдегидное производное PEG, в условиях, в которых одна или несколько групп PEG присоединяются к антителу или фрагменту антитела. В некоторых вариантах осуществления пэгилирование проводят путем реакции ацилирования или реакции алкилирования с реакционноспособной молекулой PEG (или аналогичным реакционноспособным водорастворимым полимером). Используемый в настоящем документе термин «полиэтиленгликоль» включает любые формы PEG, которые были использованы для дериватизации других белков, такие как моно(C1-C10)алкокси- или арилоксиполиэтиленгликоль, или малеимид полиэтиленгликоля. В некоторых вариантах осуществления антитело, подлежащее пэгилированию, представляет собой агликозилированное антитело. Способы пэгилирования белков известны в данной области и могут быть применены к антителам, описанным в настоящем документе. См., например, EP 0154316, Nishimura *et al.* и EP 0401384, Ishikawa *et al.*

В различных вариантах осуществления связывание антитела с VISTA, описанным в настоящем документе, модифицируют для селективного блокирования связывания антигена в тканях и средах, где связывание антигена может быть вредным, но допускает связывание с антигеном там, где это может быть полезно («активируемое антитело»). В одном варианте осуществления создается «маска» блокирующего

пептида, которая специфически связывается с антигенсвязывающей поверхностью антитела и препятствует связыванию антигена, причем эта маска связана с каждым из связывающих плеч антитела линкером, расщепляемым пептидазой. См., например, патент США № 8518404, CytomX. Такие конструкции полезны для лечения злокачественных заболеваний, при которых уровни протеаз в микроокружении опухоли значительно повышены по сравнению с неопухолевыми тканями. Селективное расщепление расщепляемого линкера в микроокружении опухоли делает возможным диссоциацию маскирующего/блокирующего пептида, обеспечивая селективное связывание антигена в опухоли, а не в периферических тканях, в которых связывание антигена может вызывать нежелательные побочные эффекты. Примеры блокирующих пептидов, связанных с антителами, приведены в WO 2018/08555.

В качестве альтернативы, в родственном варианте осуществления разработано двухвалентное связывающее соединение («маскирующий лиганд»), содержащее два антигенсвязывающих домена, которое связывается с обеими антигенсвязывающими поверхностями (двухвалентного) антитела и препятствует связыванию антигена, в котором два связывающих домена связаны друг с другом (но не с антителом) расщепляемым линкером, например, расщепляемым пептидазой. См., например, Int'l Pat. App. Pub. No. WO 2010/077643 to Tegopharm Corp. Маскирующие лиганды могут содержать антиген или происходить из антигена, с которым антитело должно связываться, или могут быть созданы независимо. Такие маскирующие лиганды полезны для лечения злокачественных заболеваний, при которых уровни протеазы значительно увеличены в микроокружении опухоли по сравнению с неопухолевыми тканями. Селективное расщепление расщепляемого линкера в микроокружении опухоли позволяет отделить два связывающих домена друг от друга, снижая avidность антигенсвязывающих поверхностей антитела. Результирующая диссоциация маскирующего лиганда от антитела делает возможным селективное связывание антигена в опухоли, а не в периферических тканях, в которых связывание антигена может вызывать нежелательные побочные эффекты

Нуклеиновые кислоты и клетки-хозяева

Также, обеспечены нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело или его тяжелую или легкую цепь, или его часть. Иллюстративные нуклеиновые кислоты представлены в таблице последовательностей. Любая нуклеиновая кислота, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентична нуклеиновой кислоте в таблице последовательностей, охвачена настоящим документом. Также,

охвачены композиции, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело, обеспеченное в настоящем документе, а также клетки, содержащие их, и способы получения антител, включающие культивирование клетки, трансформированной нуклеиновой кислотой, кодирующей анти-VISTA антитело, и выделение антитела из среды или клетки.

Способы лечения с использованием связывающих VISTA-ECD антител и связанные фармацевтические композиции

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело, которое связывается с VISTA при низком pH и, например, лишено значительного связывания при нейтральном или физиологическом pH, может представлять собой антагонистическое антитело против VISTA, то есть антитело, которое ингибирует действие VISTA таким образом, что стимулируется иммунный ответ. Такие антитела можно применять для лечения заболеваний, для которых желательна стимуляция иммунной системы или иммунного ответа, таких как пролиферативные заболевания (доброкачественные или злокачественные), рак и инфекционные заболевания (например, вирусные инфекции).

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело, которое связывается с VISTA при низком pH и, например, лишено значительного связывания при нейтральном или физиологическом pH, может представлять собой агонистическое антитело против VISTA, т.е. антитело, которое усиливает действие VISTA таким образом, что иммунный ответ ингибируется. Такие антитела можно применять для лечения заболеваний, для которых желательно подавление иммунной системы или иммунного ответа, таких как аутоиммунные заболевания и воспалительные состояния, такие как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, глютеновая болезнь, синдром Шойгрена, болезнь Грейвса, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, анкилозирующий спондилит, болезнь трансплантат против хозяина, аллергия и астма.

Антитела, описанные в настоящем документе, можно применять, например, для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления обеспечены способы лечения рака, включающие введение пациенту эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления антитела могут запускать или усиливать иммунный ответ у пациента, такой как антиген-специфический иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления антитела могут стимулировать активность Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления антитела могут ингибировать рост по меньшей мере одной опухоли у пациента.

В настоящем документе обеспечены способы лечения субъекта, имеющего рак, включающие введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-VISTA антитела, описанного в настоящем документе, таким образом, чтобы происходило лечение субъекта. Анти-VISTA антитело можно применять отдельно. Альтернативно, анти-VISTA антитело можно применять в сочетании с другим агентом, как описано более подробно ниже.

Примеры рака, который можно лечить с помощью Ab, специфически связывающегося с белком VISTA-ECD в кислых условиях, как описано в настоящем документе, включают, но без ограничения, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Рак, которые можно лечить с помощью Ab, описанного в настоящем документе, также включает рак, обычно отвечающий на иммунотерапию, и рак, который обычно не отвечает на иммунотерапию. Рак, который можно лечить, также включает VISTA-положительный рак, например, рак, имеющий VISTA-положительные опухолевые инфильтрирующие клетки, например, лимфоциты, миелоидные или моноцитарные клетки. Рак может представлять собой рак с солидными опухолями или злокачественными новообразованиями крови (жидкими опухолями).

Неограничивающие примеры рака для лечения включают плоскоклеточную карциному, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), неплоскоклеточный NSCLC, глиому, рак желудочно-кишечного тракта, рак почек (*например*, светлоклеточная карцинома), рак яичников, рак печени, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почки (*например*, почечно-клеточная карцинома (RCC)), рак предстательной железы (*например*, гормонорезистентная аденокарцинома предстательной железы), рак щитовидной железы, нейробластому, рак поджелудочной железы, глиобластому (мультиформную глиобластому), рак шейки матки, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки и рак головы и шеи (или карциному), рак желудка, опухоль зародышевых клеток, детскую саркому, синоназальную лимфому из натуральных киллеров, меланому (*например*, метастатическую злокачественную меланому, такую как кожная или внутриглазная злокачественная меланома), рак кости, рак кожи, рак матки, рак анальной области, рак яичек, карциному маточных труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, солидные опухоли детского возраста,

рак мочевого пузыря, карциному лоханки, новообразование центральной нервной системы (CNS), первичную лимфому CNS, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, рак головного мозга, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, вызванный экологией рак, включая рак, вызванный асбестом, связанный с вирусами рак или рак вирусного происхождения (*например*, вирус папилломы человека (опухоль, связанные с HPV или происходящие из HPV)), и гематологические злокачественные новообразования, происходящие от любой из двух основных линий клеток крови, то есть линии миелоидных клеток (которая продуцирует гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или линии лимфоидных клеток (которая продуцирует В, Т, NK и плазматические клетки), такие как все типы лейкозов, лимфом и миелом, *например*, острые, хронические, лимфоцитарные и/или миелогенные лейкозы, такие как острый лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфолейкоз (CLL) и хронический миелогенный лейкоз (CML), недифференцированный AML (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с созреванием клеток), промиелоцитарный лейкоз (вариант M3 или M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (вариант M4 или M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластический лейкоз (M7), изолированная гранулоцитарная саркома и хлорома; лимфомы, такие как лимфома Ходжкина (HL), неходжкинская лимфома (NHL), В-клеточные гематологические злокачественные новообразования, *например*, В-клеточные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, лимфоплазмоцитоидную лимфому, моноцитоидную В-клеточную лимфому, ассоциированную с лимфоидной тканью (MALT) лимфому, анапластическую (*например*, Ki 1+) крупноклеточную лимфому, Т-клеточную лимфому/лейкемия взрослых, лимфому из мантийных клеток, ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому, ангиоцентрическую лимфому, кишечную Т-клеточную лимфому, первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, предшественница Т-лимфобластной лимфомы, Т-лимфобластная лимфома; лимфома/лейкемия (Т-Lbly/Т-ALL), периферическая Т-клеточная лимфома, лимфобластная лимфома, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание, истинная гистиоцитарная лимфома, первичная лимфома центральной нервной системы, первичная лимфома выпота, В-клеточная лимфома, лимфобластная лимфома (LBL), гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, острый лимфобластный лейкоз, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, лимфома Беркитта, фолликулярная

лимфома, диффузная гистиоцитарная лимфома (DHL), иммунобластная крупноклеточная лимфома, предшественник В-лимфобластной лимфомы, кожная Т-клеточная лимфома (CTLC) (также называемая грибовидным микозом или синдромом Сезари) и лимфоплазмацитоидная лимфома (LPL) с макроглобулинемией Вальденстрема; миеломы, такие как миелома IgG, миелома легкой цепи, несекреторная миелома, тлеющая миелома (также называемая индолентной миеломой), одиночная плазмоцитома и множественные миеломы, хронический лимфолейкоз (CLL), волосисто-клеточная лимфома; гемопоэтические опухоли миелоидного происхождения, опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому и рабдомиосаркому; семинома, тератокарцинома, опухоли центральной и периферической нервной системы, включая астроцитому, шванномы; опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому, рабдомиосаркому и остеосаркому; и другие опухоли, включая меланому, пигментную ксеродермию, кератоакантому, семиному, фолликулярный рак щитовидной железы и тератокарциному, гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, например, Т-клеточные и В-клеточные опухоли, включая, но без ограничения, Т-клеточные нарушения, такие как Т-пролимфоцитарный лейкоз (Т-PLL), в том числе мелкоклеточный и церебриформный тип клеток; лейкоз крупных гранулярных лимфоцитов (LGL) Т-клеточного типа; и Т-NHL гепатоселезеночную лимфому; периферическую/посттимическую Т-клеточную лимфому (плеоморфные и иммунобластные подтипы); ангиоцентрическую (назальную) Т-клеточную лимфому; рак головы или шеи, рак почек, рак прямой кишки, рак щитовидной железы; острую миелоидную лимфому, а также любые комбинации указанных видов рака. Описанные в настоящем документе способы также можно применять для лечения метастатических злокачественных опухолей, неоперабельных, резистентных злокачественных опухолей (*например*, злокачественных опухолей, резистентных к предыдущей иммунотерапии, *например*, блокирующим антителом против CTLA-4 или PD-1), и/или рецидивирующих злокачественных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления обеспечены способы лечения рака, которые включают введение выделенного антитела, которое специфически связывается с huVISTA в кислых условиях, как описано в настоящем документе, имеющему рак субъекту. В некоторых вариантах осуществления обеспечено применение антитела, описанного в настоящем документе, для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациентам, имеющим рак, который проявил неадекватный ответ на предшествующее лечение или прогрессировал после предшествующего лечения, *например*, предшествующего лечения иммуноонкологическим или иммунотерапевтическим лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления рак является рефрактерным или резистентным к предшествующему лечению, либо по своей природе рефрактерным или резистентным (*например*, рефрактерным к антагонисту пути PD-1), либо резистентное или рефрактерное состояние является приобретенным. Например, описанное в настоящем документе антитело можно вводить субъектам, которые не отвечают или недостаточно отвечают на первую терапию, или у которых наблюдается прогрессирование заболевания после лечения, *например*, лечения антагонистом пути анти-PD-1, отдельно или в комбинации с другой терапией (*например*, терапией антагонистами пути анти-PD-1). В других вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациентам, которые ранее не получали (*т.е.* не получали лечения) иммуноонкологического агента, *например*, антагониста пути PD-1.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака у субъекта включает сначала определение опухолевой мутационной нагрузки (ТМВ) опухоли у субъекта и введение анти-VISTA антитела на основании полученных результатов, *например*, субъектам, у которых обнаружен высокий уровень ТМВ.

Комбинации с иммуностимулирующими агентами

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, *например*, антагонистическое антитело против VISTA, описанное в настоящем документе, вводят в комбинации по меньшей мере с одним иммуностимулирующим агентом. Например, лекарственные средства можно вводить в виде инфузии или инъекции примерно в одно и то же время. В некоторых вариантах осуществления антитело и по меньшей мере один иммуностимулирующий агент вводят последовательно. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело вводят последовательно до или после по меньшей мере одного иммуностимулирующего агента таким образом, что два лекарственных средства вводят с интервалом 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или две недели.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять

доз антитела вводят до введения по меньшей мере одного иммуностимулирующего агента. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз по меньшей мере одного иммуностимулирующего агента вводят до введения антитела. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу иммуностимулирующего агента вводят по меньшей мере за один, два, три, пять, или десять дней, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу антитела вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы по меньшей мере одного иммуностимулирующего агента. В некоторых вариантах осуществления субъект получал или получает терапию по меньшей мере одним иммуностимулирующим агентом, и VISTA-ECD-связывающее антитело добавлено к терапевтическому режиму.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент содержит антагонист ингибитора активации Т-клеток, при этом в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент содержит агонист стимулятора активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент содержит антагонист CTLA4, LAG-3, PD-1, PD-L1, галектина 1, галектина 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGF β , VEGF, KIR, LAG-3, рецептора аденозина A2A, PDKdelta илиIDO. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент содержит агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN α , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой агент, который связывается с другим членом семейства B7 мембраносвязанных белков, таким как B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4 и B7-H6. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой агент, который связывается с членом семейства рецепторов TNF, или костимулирующей или коингибирующей молекулой, связывающейся с членом семейства рецепторов TNF, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL,

CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGF/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF β , TNFR2, TNF α , 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF β . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой агент, который антагонизирует или ингибирует цитокин, ингибирующий активацию Т-клеток, такой как IL-6, IL-10, TGFP, VEGF. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой агонист цитокина, стимулирующего активацию Т-клеток, такого как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFN α . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой антагонист хемокина, такого как CXCR2, CXCR4, CCR2 или CCR4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один иммуностимулирующий агент может представлять собой вакцину, такую как вакцина, нацеленная на мезотелин, или вакцина против рака, содержащая ослабленные бактерии *Listeria*, такая как CRS-207.

Например, описанное в настоящем документе анти-VISTA антитело можно вводить с одним или несколькими из следующих агентов:

(1) антагонист (ингибитор или блокирующий агент) белка, который ингибирует активацию Т-клеток (*например*, ингибиторы иммунных контрольных точек), такого как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2 и LAG-3, галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-3 и TIM-4; и/или

(2) агонист белка, который стимулирует активацию Т-клеток, такого как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

Иллюстративные агенты, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителами, описанными в настоящем документе для лечения рака, включают: YERVOY® (ипилидумаб) или тремелидумаб (против CTLA-4), галиксимаб (против B7.1), BMS-936558 (ниволумаб; против PD-1), MK-3475 (пембролизумаб; против PD-1), атезолизумаб (TECENTRIQ®), авелумаб, дурвалумаб, семиплимаб, торипалимаб, синтилимаб, AMP224 (к B7DC), BMS-936559 (против B7-H1), MPDL3280A (против B7-H1), MEDI-570 (против ICOS), AMG557 (против B7H2), MGA271 (против B7H3),

IMP321 (против LAG-3), BMS-663513 (против CD137), PF-05082566 (против CD137), CDX-1127 (против CD27), анти-OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (против OX40L), атацицепт (против TACI), CP-870893 (против CD40), лукатумумаб (против CD40), дацетузумаб (против CD40), муромонаб-CD3 (против CD3); антитела против MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, или любую их комбинацию.

Другие молекулы, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителами для лечения рака, включают антагонисты ингибирующих рецепторов на NK-клетках или агонисты активирующих рецепторов на NK-клетках, например, антагонисты KIR (*например*, лирилумаб).

Активацию Т-клеток можно также регулировать растворимыми цитокинами. В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитела можно вводить в комбинации с антагонистами цитокинов, которые предназначены для ингибирования активации Т-клеток, или агонистами цитокинов, которые стимулируют активацию Т-клеток. Например, анти-VISTA антитела можно применять в комбинации с (i) антагонистами (или ингибиторами, или блокирующими агентами) белков семейства IgSF, семейства B7 или семейства TNF, которые ингибируют активацию Т-клеток, или антагонистами цитокинов, которые ингибируют активацию Т-клеток (*например*, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF; «иммунодепрессивные цитокины»), и/или (ii) агонистами стимулирующих рецепторов семейства IgSF, семейства B7 или семейства TNF или цитокинов, которые стимулируют активацию Т-клеток.

Еще другие агенты для комбинированной терапии включают агенты, которые ингибируют или истощают макрофаги или моноциты, включая, но без ограничения, антагонисты CSF-IR, такие как антагонистические антитела CSF-IR, включая RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, W013/87699, W013/119716, WO13/132044) или FPA-008 (WO11/140249; W013169264; WO14/036357).

Анти-VISTA антитела также можно вводить с агентами, которые ингибируют передачу сигналов TGF- β .

Дополнительные агенты, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителом, включают агенты, которые усиливают презентацию опухолевого антигена, *например*, вакцины на основе дендритных клеток, вакцины на основе GM-CSF-секретирующих клеток, CpG олигонуклеотиды и имиквимод, или методы лечения, повышающие иммуногенность опухолевых клеток (*например*, антрациклины).

Еще другие методы лечения, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителами, включают методы лечения, которые истощают или блокируют Treg-клетки, *например*, агент, который специфически связывается с CD25.

Другая терапия, которую можно комбинировать с анти-VISTA антителами, представляют собой терапию, которая ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназа (IDO), диоксигеназа, аргиназа или синтетаза оксида азота.

Другой класс агентов, которые можно использовать с анти-VISTA антителом, включает агенты, которые ингибируют образование аденозина, *например*, ингибиторы CD73, или ингибируют рецептор аденозина A2A.

Другие методы лечения, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителом для лечения рака, включают методы лечения, которые изменяют/предотвращают анергию или истощение T-клеток, и методы лечения, которые вызывают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в участке опухоли.

Другие методы лечения, которые можно комбинировать с анти-VISTA антителом для лечения рака, включают терапии, которые блокируют IL-8, *например*, с помощью NuMax®-IL8.

Анти-VISTA антитело можно комбинировать с более чем одним иммуноонкологическим агентом и можно, *например*, комбинировать с комбинаторным подходом, который предназначен для направленного воздействия на множество элементов иммунного пути, таких как один или несколько из следующих: терапию, которая усиливает презентацию опухолевого антигена (*например*, вакцина из основе дендритных клеток, вакцины на основе GM-CSF-секретирующих клеток, CpG олигонуклеотиды, имиквимод); терапию, которая подавляет негативную иммунную регуляцию, *например*, путем ингибирования пути CTLA-4 и/или PD1/PD-L1/PD-L2, и/или истощения или блокирования Treg, или других иммуносупрессорных клеток; терапию, которая стимулирует положительную иммунную регуляцию, *например*, агонистами, которые стимулируют путь CD-137, OX-40 и/или CD40 или GITR, и/или стимулирует эффекторную функцию T-клеток; терапию, которая системно увеличивает частоту противоопухолевых T-клеток; терапию, которая истощает или ингибирует Tregs, такие как Treg в опухоли, *например*, с помощью антагониста CD25 (*например*, даклизумаба) или путем истощения *ex vivo* связанных с микрогранулами антител к CD25; терапию, которая влияет на функцию супрессорных миелоидных клеток в опухоли; терапию, которая повышает иммуногенность опухолевых клеток (*например*,

антрациклины); перенос адоптивных Т-клеток или НК-клеток, включая генетически модифицированные клетки, *например*, клетки, модифицированные химерными рецепторами антигена (CAR-T терапия); терапию, которая ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназа (IDO), диоксигеназа, аргиназа или синтетаза оксида азота; терапию, которая изменяет/предотвращает анергию или истощение Т-клеток; терапию, которая запускает активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в очаге опухоли; введение иммуностимулирующих цитокинов; или блокирование иммуносупрессивных цитокинов.

Анти-VISTA антитела, описанные в настоящем документе, можно применять вместе с одним или несколькими агонистическими агентами, которые лигируют положительные костимулирующие рецепторы; блокирующими агентами, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы; антагонистами, и одним или несколькими агентами, которые системно увеличивают частоту противоопухолевых Т-клеток, агентами, которые преодолевают различные иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли (*например*, блокируют взаимодействие с ингибирующим рецептором (*например*, взаимодействия PD-L1/PD-1), истощают или ингибируют Treg (*например*, с использованием моноклональных антител к CD25 (*например*, даклизумаб) или за счет истощения *ex vivo* связанных с микрогранулами антител к CD25), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или изменяют/предотвращают анергию или истощение Т-клеток), и агентами, которые запускают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в участках опухоли.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят субъекту вместе с ингибитором BRAF, если субъект является позитивным по мутации V600 BRAF.

Подходящие антагонисты PD-1 для применения в комбинированной терапии, описанной в настоящем документе, включают, но без ограничения, лиганды, антитела (*например*, моноклональные антитела и биспецифические антитела) и поливалентные агенты. В одном варианте осуществления антагонист PD-1 представляет собой слитый белок, *например*, Fc-слитый белок, такой как AMP-244. В одном из вариантов осуществления антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или против PD-L1.

Типичным антителом против PD-1 является ниволумаб (BMS-936558) или антитело, которое содержит CDR или вариабельные области одного из антител 17D8,

2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 и 4A11, описанных в WO 2006/121168. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой МК-3475 (ламбролизумаб), описанное в WO2012/145493; AMP-514, описанное в WO 2012/145493; или PDR001. Другие известные антитела против PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают те, которые описаны в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, патентах США 7635757 и 8217149, и в публикации патента США 2009/0317368. Также, можно применять любое из антител против PD-1, раскрытых в WO2013/173223. Антитело против PD-1, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и одно из этих антител, также можно применять в комбинированном лечении.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1, используемое для комбинированной терапии, представляет собой BMS-936559 (обозначаемое как 12A4 в WO 2007/005874 и патенте США 7943743), или антитело, которое содержит CDR или переменные области 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4, которые описаны в публикации PCT WO 07/005874 и патенте США 7943743. В определенном варианте осуществления антитело против PD-L1 представляет собой MEDI4736 (также известное как дурвалумаб и анти-B7-H1), MPDL3280A (также известное как атезолизумаб и RG7446), MSB0010718C (также известное как авелумаб; WO2013/79174) или rHigM12B7. Также, можно применять любое из антител против PD-L1, раскрытых в WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, патентах США 7635757 и 8217149, и в публикации США 2009/145493. Антитела против PD-L1, которые конкурируют за связывание и/или связываются с тем же эпитопом, что и эпитоп любого из этих антител, также можно применять в комбинированных методах лечения.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело по настоящему раскрытию можно применять с антагонистом CTLA-4, *например*, антителом против CTLA-4. В одном варианте осуществления антитело CTLA-4 антитело представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из: Yervoy[®] (ипилимумаб или антитело 10D1, описанное в публикации PCT WO 01/14424), тремелимумаба (ранее называвшегося тицилимумаб, CP-675,206), моноклонального или анти-CTLA-4 антитела, описанного в любой из следующих публикаций: WO 98/42752; WO 00/37504; патент США 6207156; Hurwitz *et al.* (1998) *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 95(17): 10067-10071; Camacho *et al.* (2004) *J. Clin. Oncology* 22(145): Abstract No. 2505 (антитело CP-

675206); и Mokyr *et al.* (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304. Также, можно применять любое из антител против CTLA-4, раскрытых в WO2013/173223.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело по настоящему раскрытию применяют в комбинации с антагонистом LAG3. Примеры антител против LAG3 включают антитела, содержащие CDR или переменные области антител 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 или 17E5, которые описаны в публикации патента США № US2011/0150892, WO10/19570 и WO2014/008218. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. Другие признанные в данной области антитела против LAG-3, которые могут быть использованы, включают IMP731 и IMP-321, описанные в US 2011/007023, WO08/132601 и WO09/44273. Антитела против LAG-3, которые конкурируют за связывание и/или связываются с тем же эпитопом, что и эпитоп любого из этих антител, также могут быть использованы в комбинированных методах лечения.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело по настоящему раскрытию можно вводить в комбинации с агонистом CD137 (4-1BB), таким как агонистическое антитело CD137. Подходящие антитела к CD137 включают, например, урелумаб или PF-05082566 (WO12/32433).

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело можно вводить в комбинации с агонистом OX40, таким как агонистическое антитело против OX40. Подходящие антитела против OX40 включают, например, MEDI-6383, MEDI-6469 или MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

В одном варианте осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с агонистом CD40, таким как агонистическое антитело против CD40. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист CD40, такой как антагонистическое антитело против CD40. Подходящие антитела против CD40 включают, например, лукатумумаб (HCD122), дацегузумаб (SGN-40), CP-870,893 или Chi Lob 7/4.

В одном варианте осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с агонистом CD27, таким как агонистическое антитело против CD27. Подходящие антитела против CD27 включают, например, варлилумаб (CDX-1127).

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят вместе с антителом против GITR, *например*, антителом, имеющим CDR-последовательности 6C8, *например*, гуманизированным антителом, имеющим CDR-последовательности 6C8, как описано, *например*, в WO2006/105021; антителом, содержащим CDR-

последовательности антитела против GITR, описанного в WO2011/028683; антителом, содержащим CDR-последовательности антитела против GITR, описанного в JP2008278814, антителом, содержащим CDR-последовательности антитела против GITR, описанного в WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 или WO2016/057846, или другим антителом против GITR, описанным или упомянутым в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с MGA271 (к В7Н3) (WO11/109400).

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с антагонистом KIR, таким как лирилумаб.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с антагонистом IDO. Подходящие антагонисты IDO включают, например, (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), индоксимод, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) или F001287.

В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с агонистом Toll-подобного рецептора, *например*, агонистом TLR2/4 (*например*, Bacillus Calmette-Guerin); агонистом TLR7 (*например*, хилтонол или имиквимод); агонистом TLR7/8 (*например*, резиквимод); или агонистом TLR9 (*например*, CpG7909).

В одном варианте осуществления анти-VISTA антитело вводят в комбинации с ингибитором TGF- β , *например*, GC1008, LY2157299, TEW7197 или IMC-TR1.

Дополнительная комбинированная терапия

Антитела в настоящем документе могут быть также обеспечены до, по существу одновременно или после других способов лечения, например, хирургического вмешательства, химиотерапии, лучевой терапии или введения биологического препарата, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления рак рецидивировал или прогрессировал после терапии, выбранной из хирургического вмешательства, химиотерапии и лучевой терапии, или их комбинации. Например, анти-VISTA антитело, как описано в настоящем документе, можно вводить в качестве вспомогательной терапии, когда существует риск микрометастазов и/или для снижения риска рецидива.

Для лечения рака комбинации можно вводить в сочетании с одним или несколькими дополнительными противораковыми агентами, такими как химиотерапевтический агент, ингибирующий рост агент, противораковая вакцина,

такая как вакцина для генной терапии, агент против ангиогенеза и/или противоопухолевая композиция. Неограничивающие примеры химиотерапевтического агента, ингибирующего рост агента, противораковой вакцины, агента против ангиогенеза и противоопухолевой композиции, которые можно использовать в комбинации с антителами по настоящему изобретению, представлены в настоящем документе в разделе «Определения».

В некоторых вариантах осуществления вместе с комбинацией можно вводить противовоспалительное лекарственное средство, такое как стероидное или нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (NSAID). В случаях, когда желательно привести в состояние покоя aberrantly пролиферирующие клетки одновременно или до лечения антителами против VISTA, описанными в настоящем документе, можно также вводить пациенту гормоны и стероиды (включая синтетические аналоги), такие как 17 α -этинилэстрадиол, диэтилстильбэстрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолон пропионат, тестолактон, мегестролацетат, метилпреднизолон, метил-тестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоклутетимид, эстрамустин, медроксипрогестерона ацетат, леупролид, флутамид, торемифен, ZOLADEX[®]. При использовании способов или композиций, описанных в настоящем документе, при желании можно вводить другие агенты, используемые для модуляции роста или метастазирования опухоли в клинических условиях, такие как антимииметики.

Антитела, описанные в настоящем документе, также можно комбинировать с иммуногенным агентом, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (включая рекомбинантные белки, пептиды и молекулы углеводов), клетки и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины (He *et al.*, (2004) *J. Immunol.* 173:4919-28). Неограничивающие примеры противоопухолевых вакцин, которые могут быть использованы, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназу, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF (обсуждается далее ниже).

Было показано, что у людей некоторые опухоли, такие как меланомы, являются иммуногенными. При снижении порога активации Т-клеток посредством ингибирования VISTA можно активировать ответ опухоли на лечение у хозяина, что позволяет лечить неиммуногенные опухоли или опухоли с ограниченной иммуногенностью.

Описанное в настоящем документе анти-VISTA антитело также можно комбинировать с протоколом вакцинации. Был разработан ряд экспериментальных стратегий для вакцинации против опухолей (см. Rosenberg, S., 2000, *Development of Cancer Vaccines*, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; см. также Restifo, N. and Sznol, M., *Cancer Vaccines*, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita *et al.* (eds.), 1997, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, Fifth Edition). По одной из этих стратегий вакцину получают с использованием аутологичных или аллогенных опухолевых клеток. Было показано, что эти клеточные вакцины являются наиболее эффективными, когда опухолевые клетки трансдуцируют для экспрессии GM-CSF. Было показано, что GM-CSF является сильным активатором презентации антигена для противоопухолевой вакцинации (Dranoff *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* 90: 3539-43).

Изучение экспрессии генов и крупномасштабных паттернов экспрессии генов в различных опухолях привело к определению так называемых опухолеспецифических антигенов (Rosenberg, S A (1999) *Immunity* 10: 281-7). Во многих случаях эти опухолеспецифические антигены представляют собой дифференцировочные антигены, экспрессируемые в опухолях и в клетке, из которой возникла опухоль, например, меланоцитарные антигены gp100, антигены MAGE и Trp-2. Более важно, как может быть показано, что многие из этих антигенов являются мишенями для опухолеспецифических Т-клеток, обнаруженных в организме хозяина. Ингибирование VISTA можно использовать в сочетании с набором рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессируемых в опухоли, для генерирования иммунного ответа на эти белки. Эти белки обычно рассматриваются иммунной системой как аутоантигены и поэтому толерантна к ним. Опухолевый антиген может включать белок теломеразу, которая необходима для синтеза теломер хромосом и которая экспрессируется в более чем 85% случаев рака человека, и только в ограниченном количестве соматических тканей (Kim *et al.* (1994) *Science* 266: 2011-2013). Опухолевый антиген также может быть «нео-антигенами», экспрессируемыми в раковых клетках вследствие соматических мутаций, которые изменяют белковую последовательность или создают слитые белки между двумя неродственными последовательностями (*например*, bcr-abl в хромосоме Philadelphia), или идиотипом из В-клеточных опухолей.

Другие противоопухолевые вакцины могут включать белки вирусов, вызывающих рак человека, таких как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы

гепатита (HBV и HCV) и вирус герпеса саркомы Капоши (KHSV). Еще одна форма опухолеспецифического антигена, которую можно использовать в сочетании с ингибированием VISTA, представляет собой очищенные белки теплового шока (HSP), изолированные из самой ткани опухоли. Эти белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, и эти HSP высокоэффективно доставляются клеткам, представляющим антиген, для индукции противоопухолевого иммунитета (Suot & Srivastava (1995) *Science* 269: 1585-1588; Tamura *et al.* (1997) *Science* 278: 117-120).

Дендритные клетки (DC) являются сильнодействующими антигенпрезентирующими клетками, которые могут быть использованы для первичных антигенспецифических ответов. DC могут быть продуцированы *ex vivo* и нагружены различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle *et al.* (1998) *Nature Medicine* 4: 328-332). Клетки DC также могут быть трансдуцированы генетическими средствами для экспрессии этих опухолевых антигенов. DC также были слиты непосредственно с опухолевыми клетками для целей иммунизации (Kugler *et al.* (2000) *Nature Medicine* 6:332-336). В качестве способа вакцинации иммунизация DC может эффективно сочетаться с ингибированием VISTA для активации более мощных противоопухолевых ответов.

Лечение инфекционных заболеваний

Описанные в настоящем документе способы также можно использовать для лечения пациентов, подвергшихся воздействию определенных токсинов или патогенов. Таким образом, данное раскрытие также рассматривает способы лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающие введение субъекту антитела, как описано в настоящем документе, например, антагонистического антитела против VISTA, таким образом, субъект лечится от инфекционного заболевания. Подобно его применению по отношению к опухолям, как обсуждалось выше, опосредованное антителами ингибирование VISTA можно использовать отдельно или в качестве адъюванта в комбинации с вакцинами для стимуляции иммунного ответа на патогены, токсины и аутоантигены. Примеры патогенов, для которых такой терапевтический подход может быть особенно применим, включают патогены, против которых в настоящее время нет эффективной вакцины, или патогены, против которых традиционные вакцины недостаточно эффективны. Такие патогены включают, но без ограничения, HIV, гепатит (A, B и C), грипп, герпес, лямблии, малярию, лейшманию, стафилококк золотистый (*Staphylococcus aureus*), синегнойную палочку (*Pseudomonas*

aeruginosa). Ингибирование VISTA может быть полезно против установленных инфекций, вызываемых такими агентами, как HIV, которые представляют измененные антигены в течение развития инфекций.

Некоторые примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, которые поддаются лечению способами, описанными в настоящем документе, включают HIV, гепатит (А, В или С), вирус герпеса (например, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II и CMV, вирус Эпштейна-Барра), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, коронавирус, респираторно-синцитиальный вирус, вирус свинки, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коровьей оспы, вирус человеческого Т-клеточного лейкоза (HTLV), вирус денге, папилломавирус, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус Джона Каннингема (JC) и вирус арбовирусного энцефалита.

Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающих инфекции, которые поддаются лечению способами, описанными в настоящем документе, включают хламидии, риккетсиальные бактерии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиеллу, протей, серратию, синегнозную палочку, легионеллу, дифтерию, столбняк, ботулизм, сибирскую язву, чуму, лептоспироз и бактерии болезни Лайма.

Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем документе, включают *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* и т.д.), Genus *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*.

Некоторые примеры болезнетворных паразитов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению с помощью способов, описанных в настоящем документе, включают *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba sp.*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium sp.*, *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* и *Nippostrongylus brasiliensis*.

Во всех вышеупомянутых способах ингибирование VISTA можно комбинировать с другими формами иммунотерапии, например, описанными в настоящем документе, такими как лечение цитокинами (например, интерферонами, GM-CSF, G-CSF, IL-2), или терапия биспецифическими антителами, которая обеспечивает улучшенную презентацию противоопухолевых антигенов (см., например,

Holliger (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak (1994) *Structure* 2: 1121-1123).

Пути введения и носители

В различных вариантах осуществления антитела можно вводить *in vivo* различными путями, включая, но без ограничения, пероральный, внутриартериальный, парентеральный, интраназальный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, интратрахеальный, буккальный, ректальный, внутрибрюшинный, внутрикожный, местный, трансдермальный и интратекальный или иной путь с помощью имплантации или ингаляции. Рассматриваемые композиции могут быть составлены в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах; включая, но без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, клизмы, инъекции, средства для ингаляции и аэрозоли. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, может быть нанесена на микрочастицы золота и доставлена внутрикожно с помощью устройства для бомбардировки частицами или «генной пушки», как описано в литературе (см., например, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). Соответствующий состав и путь введения могут быть выбраны в соответствии с предполагаемым применением.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, представлены в составах с широким спектром фармацевтически приемлемых носителей (см., например, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Доступны различные фармацевтически приемлемые носители, которые включают растворители, адъюванты и разбавители. Кроме того, также доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, например, регулирующие pH и буферные средства, средства, регулирующие тоничность, стабилизаторы, смачивающие средства и т.п. Неограничивающие иллюстративные носители содержат солевой раствор, забуференный солевой раствор, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, могут быть составлены для инъекции, включая подкожное введение, путем их растворения, суспендирования или эмульгирования в водном или неводном растворителе, таком как растительное или другие масла, синтетические глицериды

алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и, если желательно, с обычными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические агенты, суспендирующие агенты, эмульгирующие агенты, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления композиции могут быть составлены для ингаляции, например, с использованием приемлемых пропеллентов под давлением, таких как дихлордифторметан, пропан, азот и т.п. В различных вариантах осуществления композиции также могут быть составлены в виде микрокапсул с пролонгированным высвобождением, например, с биоразлагаемыми или не биоразлагаемыми полимерами. Неограничивающий иллюстративный биоразлагаемый состав включает сополимер молочной и гликолевой кислот. Неограничивающий иллюстративный небiorазлагаемый состав включает сложный эфир полиглицерина и жирной кислоты. Некоторые способы получения таких составов описаны, например, в EP 1125584 A1.

Также, обеспечены фармацевтические упаковки и наборы, содержащие один или несколько контейнеров, каждый из которых содержит одну или несколько доз антитела или комбинацию антител. В некоторых вариантах осуществления обеспечена единица дозирования, при этом единица дозирования содержит заданное количество композиции, содержащей антитело или комбинацию антител, с одним или несколькими дополнительными агентами или без них. В некоторых вариантах осуществления такая единица дозирования поставляется в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекции. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в единице дозирования, может содержать физиологический раствор, сахарозу или тому подобное; буфер, например, фосфат или тому подобное; и/или быть составленной в пределах стабильного и эффективного диапазона pH. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления композиция может быть представлена в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен при добавлении соответствующей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит одно или несколько веществ, которые ингибируют агрегацию белка, включая, но без ограничения, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция по настоящему изобретению содержит гепарин и/или протеогликан.

Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики конкретного показания. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от веса субъекта, подвергаемого лечению, его или ее физического

состояния или нарушения здоровья, обширности состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, подвергаемого лечению. Как правило, антитела вводят в количестве от около 10 мкг/кг массы тела до около 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела вводят в количестве от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела вводят в количестве от около 100 мкг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела вводят в количестве от около 100 мкг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела вводят в количестве от около 0,5 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу.

Композиции антител можно вводить субъектам по мере необходимости. Частота введения может быть определена специалистами в данной области, например, лечащим врачом исходя из патологического состояния, подлежащего лечению, возраста субъекта, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, общего состояния здоровья пациента, подлежащего лечению, и т.п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят субъекту или несколько раз. В различных вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят субъекту один раз в месяц, менее одного раза в месяц, например, раз в два месяца или раз в три месяца. В других вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят чаще одного раза в месяц, например, каждые три недели, каждые две недели или каждую неделю. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят один раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят два или три раза в неделю. Эффективную дозу антитела вводят субъекту по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела можно вводить множество раз, включая периоды, составляющие по меньшей мере месяц, по меньшей мере шесть месяцев или по меньшей мере год.

В некоторых вариантах осуществления комбинацию анти-VISTA антитела и второго агента, обсуждаемого в настоящем документе, можно вводить одновременно в виде единой композиции в фармацевтически приемлемом носителе или одновременно в виде отдельных композиций с анти-VISTA антителом и вторым агентом в фармацевтически приемлемом носителе. В одном варианте осуществления комбинацию анти-VISTA антитела и второго агента можно вводить последовательно. Введение двух агентов можно начинать с интервалом, *например*, в 30 минут, 60 минут,

90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или одну или несколько недель, или введение второго агента можно начинать, *например*, через 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или одну или несколько недель после введения первого агента.

Способы идентификации антител, связывающихся с hVISTA-ECD при низком pH

В настоящем документе также обеспечены способы идентификации антител (Abs), которые специфически связываются с белком VISTA-ECD в кислых (или при низком pH) условиях. В некоторых вариантах осуществления способ идентификации антитела (Ab), которое специфически связывается с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или ниже, включает приведение в контакт тестируемого Ab или множества тестируемых Abs с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или ниже, и отбор тестируемого Ab, если оно связывается с ECD белка VISTA со значением K_D , равным 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М или менее. В некоторых вариантах осуществления способ осуществляют при pH 6,5, тогда как в других его осуществляют при pH 6,0, или при pH 5,5, или pH 5,0. В некоторых вариантах осуществления белок VISTA-ECD представляет собой белок hVISTA-ECD, или содержит IgV-домен hVISTA, или представляет собой полипептид, содержащий аминокислоты 20-95 из SEQ ID NO: 2 или аминокислоты 20-70, 35-95 или 35-70 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид также содержит аминокислоты 95-105 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит аминокислоты 35-127 или 37-125 из SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает тестирование связывания тестируемого Ab или множества тестируемых Abs при нейтральном, физиологическом или щелочном pH, таком как pH 7,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выбор антитела, если оно не только связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М или менее при pH 6,5 или ниже, но также, если оно специфически связывается с полипептидом при pH 7,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления тестируемые Abs выбирают, если они специфически связываются с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или ниже, а также специфически связываются с белком VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном pH с аналогичной аффинностью (т.е. они представляют собой «рап связывающие вещества»). Например, некоторые такие Abs могут связываться с белком VISTA-ECD

со значением K_D , равным 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М или менее, при рН 6,5 и при рН 7,0 или рН 7,4 (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С), таким образом, что K_D при рН 6,5 находится в пределах 1,5-кратного значения K_D при рН 7,0.

Некоторые Abs могут быть выбраны, если они специфически связываются с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при рН 6,5 или менее с более высокой аффинностью, чем при нейтральном или щелочном рН («рН-чувствительные связывающие вещества» или «рН-чувствительные Abs»). Например, в некоторых вариантах осуществления Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при рН 6,5 и со значением K_D , равным более 10^{-8} М при рН 7,0 или рН 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при рН 6,5 и со значением K_D при рН 7,0 или рН 7,4, которое более чем в 1,5 раза выше, чем значение K_D при рН 6,5. В некоторых вариантах осуществления выбирают рН-чувствительное Ab, если оно специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при рН 6,5, чем при рН 7,0 или рН 7,4 (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С). Например, в некоторых случаях выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при рН 6,0 по сравнению с рН 7,0 или рН 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С).

В некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{off} , которое ниже в кислых условиях по сравнению со значением k_{off} в нейтральных, физиологических или щелочных условиях. В некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при рН 6,5, чем значение k_{off} при рН 7,0 или рН 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, в некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со скоростью k_{off} , которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при рН 6,0 по сравнению с рН 7,0 или рН 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С.

В некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое выше в кислых условиях по сравнению с

нейтральными или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,5, чем значение k_{on} при pH 7,0 или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C. Например, в некоторых вариантах осуществления выбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C.

Способы модификации чувствительности к pH антител (Abs), связывающихся с VISTA-ECD

Антитело (Ab), которое связывается с белком VISTA-ECD, но не связывается с ним при pH 6,5 или менее, или не связывается с ним с высокой аффинностью при pH 6,5 или менее, может быть сконструировано для увеличения его аффинности связывания при pH 6,5 или ниже. Например, паратоп Ab может быть мутирован, например, путем замены одного или нескольких аминокислотных остатков. Например, в некоторых вариантах осуществления 1-8, например, 1-6, 1-4, 1-3, 1-2 или 1 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи Ab, которые являются остатками, контактирующими с VISTA-ECD (например, остатками в одной или нескольких CDR-областях), могут быть заменены другим аминокислотным остатком. Затем мутированное Ab может быть протестировано на связывание с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или менее, и могут быть отобраны виды антител, связывающихся с более высокой аффинностью, чем исходное антитело. При желании, описанные выше стадии можно повторять таким образом, чтобы провести два или более раундов мутагенеза и отбора на Abs и выбрать связывающие вещества с наивысшей аффинностью при кислом pH. В некоторых вариантах осуществления такой отбор может улучшить противоопухолевую эффективность полученного в результате антитела по сравнению с его родителем.

Вышеупомянутый способ отбора может также следовать ранее описанному общему отбору антител, специфически связывающихся с белком VISTA-ECD. А именно, в некоторых вариантах осуществления улучшенное Ab отбирают, если оно связывается с ECD белка VISTA со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления отбор выполняют при pH 6,0, или при pH 5,5, или при pH 5,0 вместо pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления белок VISTA-ECD, используемый для процесса отбора, представляет собой полный белок hVISTA-ECD, или представляет собой полипептид, который содержит IgV-домен

hVISTA, или представляет собой полипептид, содержащий аминокислоты 20-95 из SEQ ID NO: 2, или аминокислоты 20-70, 35-95 или 35-70 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления полипептид также содержит аминокислоты 95-105 из SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления используют полипептид, содержащий аминокислотные остатки 35-127 из SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления способ улучшения связывания антитела против VISTA с VISTA ECD при кислом pH включает увеличение количества остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и гистидина в одной или нескольких CDR-областях VH или VL, например, CDR1, CDR2 и CDR3 VH или только CDR1 и CDR3 VH. В некоторых вариантах осуществления способ включает увеличение количества остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и/или гистидина в областях антитела, которые контактируют с hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает тестирование связывания отобранного Ab при нейтральном, щелочном или физиологическом pH, таком как pH 7,0 или 7,4. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает отбор антитела, если оно не только связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее при pH 6,5 или ниже, но также, если оно специфически связывается с полипептидом при pH 7,0 или 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления отбирают Abs, если они специфически связываются с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или менее, а также специфически связываются с белком VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном или физиологическом pH со сходной аффинностью (т.е. они представляют собой «rap связующие вещества»). Например, некоторые такие Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, при pH 6,5, а также при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, 25 °C или при 37 °C) таким образом, что значение K_D при pH 6,5 находится в пределах 1,5-кратного значения K_D при pH 7,0 или при pH 7,4.

Некоторые антитела могут быть отобраны, если они специфически связываются с белком VISTA-ECD в кислых условиях, например, при pH 6,5 или менее с более высокой аффинностью, чем при нейтральном, физиологическом или щелочном pH («pH-чувствительные связывающие вещества» или «pH-чувствительные Abs»). Например, в некоторых вариантах осуществления Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, при pH 6,5 и со значением K_D ,

равным более 10^{-8} М, при рН 7,0. В некоторых таких вариантах осуществления Abs могут связываться с белком VISTA-ECD со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее, при рН 6,5 и со значением K_D при рН 7,0, которое более чем в 1,5 раза выше, чем значение K_D при рН 6,5. В некоторых вариантах осуществления отбирают рН-чувствительное Ab, если оно специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при рН 6,5, чем при рН 7,0 или рН 7,4 (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С). Например, в некоторых случаях отбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со значением K_D , которое по меньшей мере 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при рН 6,0 по сравнению с рН 7,0 или рН 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, 25 °С или 37 °С).

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение k_{off} при двух значениях рН. В некоторых таких вариантах осуществления отбирают Ab, если оно специфически связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{off} , которое ниже в кислых условиях по сравнению со значением k_{off} в нейтральных, физиологических или щелочных условиях. В некоторых вариантах осуществления отбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при рН 6,5, чем значение k_{off} при рН 7,0 или рН 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, в некоторых вариантах осуществления отбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD с константой скорости k_{off} , которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при рН 6,0 по сравнению с рН 7,0, как измерено, например, при 25 °С или при 37 °С.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение k_{on} при двух значениях рН. В некоторых таких вариантах осуществления отбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое выше в кислых условиях по сравнению с нейтральными, физиологическими или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления отбирают Ab, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислых условиях со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при рН 6,5, чем значение k_{on} при рН 7,0 или рН 7,4, как измерено, например, при 25 °С или 37 °С. Например, в некоторых вариантах осуществления отбирают Ab, если оно связывается с

белком VISTA-ECD со значением k_{on} , которое по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 или pH 7,4, как измерено, например, при 25 °C или 37 °C.

Антитела, которые связываются преимущественно с huVISTA при кислом pH по сравнению с нейтральным или физиологическим pH, могут быть идентифицированы путем положительного скрининга библиотеки антител против VISTA или фрагментов Fab или scFv на связывание при кислом pH, например, pH 6,0 или 6,5, и отрицательного скрининга библиотеки на отсутствие связывания при нейтральном pH, например, pH 7,0 или физиологическом pH, например, pH 7,4. Библиотека может быть обогащена остатками глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и гистидина, например, для отбора связывающих доменов, которые могут быть заряжены и с большей вероятностью связываются с VISTA при кислом pH. Скрининг может включать положительный отбор при кислом pH и отрицательные отборы при нейтральном или физиологическом pH. Положительный и отрицательные отборы можно чередовать.

Альтернативно, антитело связывающееся с VISTA при нейтральном и кислом pH, может быть сконструировано таким образом, чтобы связывание отсутствовало при нейтральном pH и поддерживалось или даже усиливалось при кислом pH. Например, может быть создана библиотека путем замены аминокислотных остатков в VH и необязательно VL, например, в одной или нескольких CDR-областях, и скрининга библиотеки на положительный отбор антител, которые связываются с hVISTA при кислом pH, и отрицательный отбор антител, которые не связываются с VISTA при нейтральном (или физиологическом) pH. Аналогичный способ можно использовать для конструирования связывающих VISTA антител, имеющих желаемый pH-селективный, pH-зависимый или pH-независимый профиль связывания с VISTA.

Конкретные варианты осуществления

Дополнительные варианты осуществления этого раскрытия включают следующее:

1. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека (hVISTA) в кислых условиях.
2. Выделенное антитело по варианту осуществления 1, которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, но незначительно в нейтральных или физиологических условиях.

3. Выделенное антитело по варианту осуществления 1 или 2, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его значение K_D в нейтральных или физиологических условиях.

4. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-3, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его значение K_D в нейтральных или физиологических условиях.

5. Выделенное антитело по любому из пп. 1-4, где указанное антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 1000 раз ниже, чем его значение K_D в нейтральных или физиологических условиях.

6. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-5, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-5} М или более.

7. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-6, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-4} М или более.

8. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-7, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-3} М или более.

9. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-8, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее.

10. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-9, где указанное антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее.

11. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-10, где указанное антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее.

12. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-11, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} или менее, и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-4} или более.

13. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-12, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} или

менее, и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-5} или более.

14. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-13, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 5 раз ниже, чем его значение k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

15. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-14, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его значение k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

16. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-15, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 50 раз ниже, чем его значение k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

17. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-16, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его значение k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

18. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-17, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.

19. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-18, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.

20. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-19, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.

21. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-20, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-3} c^{-1} или менее.

22. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-21, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.

23. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-22, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.
24. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-23, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.
25. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-24, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-4} c^{-1} или менее.
26. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-25, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.
27. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-26, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.
28. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-21, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.
29. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-28, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-5} c^{-1} или менее.
30. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-29, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-3} c^{-1} или более.
31. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-30, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.
32. Выделенное антитело по любому из пп. 1-31, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.
33. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-32, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

34. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-33, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-2} c^{-1} или более.

35. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-34, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

36. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-35, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

37. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-36, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

38. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-37, где связывание антитела с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях является неопределяемым, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

39. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-38, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

40. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-39, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-4} c^{-1} или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-2} c^{-1} или более.

41. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-40, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} M или более, и со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

42. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-41, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} M или более, и со значением k_{off} , равным 10^{-2} c^{-1} или более.

43. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-42, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D в диапазоне от 10^{-12} до 10^{-8} М и со значением k_{off} в диапазоне от 10^{-4} до $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D в диапазоне от 10^{-7} до 10^{-4} М и со значением k_{off} в диапазоне от 3×10^{-3} до 10^{-2} с^{-1} или более.

44. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-43, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D в диапазоне от 10^{-12} до 10^{-8} М и со значением k_{off} в диапазоне от 10^{-4} до $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D в диапазоне от 10^{-7} до 10^{-4} М и со значением k_{off} в диапазоне от 3×10^{-3} до 10^{-2} с^{-1} или более; и при этом антитело связывается с VISTA яванского макака со значением K_D , равным 10^{-7} или менее.

45. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-44, где указанное антитело связывается с hVISTA со значением K_D , которое по меньшей мере в 10 раз ниже при pH 6,9, чем при pH 7,4, и/или со значением K_D , которое по меньшей мере в 100 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,4, и по меньшей мере в 1000 раз ниже при pH 6,0, чем при pH 7,4.

46. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-45, где антитело специфически связывается с VISTA яванского макака (супо).

47. Выделенное антитело по варианту осуществления 46, где указанное антитело связывается с супо VISTA с более высокой аффинностью в кислых условиях по сравнению с физиологическими условиями.

48. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 45-47, где антитело связывается с супо VISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} или менее, и/или со значением k_{off} , равным 10^{-2} или менее, и в физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} или более, и/или со значением k_{off} , равным 10^{-2} или более.

49. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-48, где кислые условия представляют собой условия, имеющие pH 6,5 или менее.

50. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-49, где кислые условия представляют собой условия, имеющие pH от 6,0 до 6,5.

51. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-50, где нейтральными условиями являются условия, имеющие pH 7,0.

52. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-51, где физиологическими условиями являются условия, имеющие pH от 7,35 до 7,45.

53. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-52, где физиологические условия представляют собой условия, имеющие рН 7,4.

54. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-53, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, такими как человеческие CD4⁺ Т-клетки (антагонистическое антитело).

55. Выделенное антитело по варианту осуществления 54, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками в условиях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

56. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-55, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческим PSGL-1 (huPSGL-1) и/или Ab конкурирует с huPSGL1 за связывание с hVISTA.

57. Выделенное антитело по варианту осуществления 56, где антитело ингибирует связывание hVISTA с huPSGL-1 в условиях, имеющих рН менее 7,0.

58. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-57, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат-протеогликанами.

59. Выделенное антитело по варианту осуществления 58, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат-протеогликанами в условиях, имеющих рН менее 7,0.

60. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 55, 57 или 59, где состояние, имеющее рН менее 7,0, представляет собой опухоль или любую пораженную область, имеющую рН менее чем рН 7,0, у субъекта и для которого желательна иммунностимуляция.

61. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-60, где антитело стимулирует активацию Т-клеток, о чем свидетельствует, например, усиление пролиферации Т-клеток; усиление продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляция опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF-kB; как определено, например, как описано в примерах.

62. Выделенное антитело по варианту осуществления 61, где указанное антитело стимулирует активацию Т-клеток в условиях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

63. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-62, где антитело снижает опосредованную VISTA межклеточную адгезию.

64. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-63, где антитело имеет среднее время удержания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400 или 500 дней у яванских макаков.

65. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-64, где антитело не связывается в значительной степени с VISTA-положительными клетками, например, нейтрофилами, в периферической крови субъекта, которому его вводят.

66. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-65, где антитело значительно не истощает VISTA-положительные клетки, например, нейтрофилы, в периферической крови субъекта, которому его вводят.

67. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-66, где антитело сконструировано для связывания с hVISTA при кислом pH, но при этом антитело не связывается специфически с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH.

68. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-67, где антитело связывается в богатой гистидином области hVISTA или рядом с ней, такой как богатое гистидином удлинение β -листа.

69. Выделенное антитело по варианту осуществления 68, где указанное антитело связывается в богатой гистидином области hVISTA или рядом с ней, такой как богатое гистидином удлинение β -листа, в условиях, имеющих pH 6,0-6,5.

70. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-68, где антитело конкурирует или перекрестно конкурирует за связывание с hVISTA с одним или несколькими антителами, описанными в настоящем документе, например, содержащими VH и VL из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, or P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752

P1-068754, VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3); как определено, например, с помощью конкурентного анализа эпитоп-специфической сортировки BLI, описанного в примере 15.

71. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-70, где антитело связывается с эпитопом Группы А, как определено, например, с помощью конкурентного анализа эпитоп-специфической сортировки BLI, описанного в примере 15.

72. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-70, где антитело не связывается значительно с hVISTA, в котором один или несколько из следующих аминокислотных остатков были мутированы: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

73. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA, состоящим из SEQ ID NO: 1 или 2, но не связывается значительно с hVISTA, в котором один или несколько из следующих аминокислотных остатков были мутированы: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA; например, как определено с помощью мутационного анализа дрожжей, описанного в примерах.

74. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-73, где антитело не связывается значительно с hVISTA, в котором мутированы 2, 3, 4, 5 или более из следующих аминокислотных остатков: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

75. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 72-74, где антитело не связывается значительно с hVISTA, в котором один или несколько из следующих остатков были мутированы на один из соответствующих остатков, показанных в таблице 15: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

76. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-75, где Ab связывается с аминокислотной областью ⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷ hVISTA (SEQ ID NO: 497), как определено с помощью HDX-MS, как описано в примерах.

77. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-76, где Ab связывается с аминокислотными областями ⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷ hVISTA (SEQ ID NO: 497), а также, но менее сильно, с аминокислотами ⁵⁷LGPVDKGHDVTF⁶⁸ (SEQ ID NO: 498) и ¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME¹⁶⁵ (SEQ ID NO: 499).

78. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) Т-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков антитела, описанного в настоящем документе, такого как VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, P1-070976_E97P, P1-061015, P1-061029, P1-068761 или P1-068767, таких как одна или несколько аминокислот, выбранных из одной из следующих групп энергетически важных контактных остатков: (i) V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127; (ii) V34, T35, Y37, T39, Y41, S52, R54, F62, L65, H66, H68, L115, V117, I119, R120, H121, H122, S124, E125; или (iii) Y37, T39, R54, F62, H66, L115 или V117, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

79. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) Т-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

80. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) Т-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически

важных контактных остатков VISTA.4, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15.

81. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-80, где Ab связывается с петлей FG hVISTA.

82. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-81, где Ab связывается с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах.

83. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-82, где Ab контактирует с H121, H122 и H123 hVISTA (расстояние, например, 4,0 ангстрема (\AA) или менее), например, посредством водородных связей, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах.

84. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-83, где Ab контактирует с hVISTA через CDR1 VH и CDR3 VH, и, например, незначительно через CDR2 VH и/или через CDR VL.

85. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-84, где аминокислотные остатки 110 и 112 тяжелой цепи антитела образуют водородные связи с H121 и H122 hVISTA, соответственно, и необязательно, где аминокислотный остаток антитела образует водородную связь с H123 hVISTA, где нумерация аминокислот антитела соответствует нумерации, используемой в Примерах.

86. Антитело по варианту осуществления 85, где антитело содержит одно или несколько (например, 1-5, 5-10, 10-15, 10-20 или 15-20) взаимодействий с hVISTA, перечисленных в таблице 31 под VISTA.4.

87. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-86, где Ab контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH.

88. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-87, где Ab не связывается значительно с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

89. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-88, где Ab связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5, со значением K_D (или k_{off}), которое по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D и/или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

90. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-89, где Ab не связывается значительно с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

91. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ab:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о усиливает активацию Т-клеток, например, путем усиления пролиферации Т-клеток; усиления продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидином расширением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах;

о контактирует с (i) H121, H122 и/или H123, или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстрема (Å) или менее), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах;

о связывается с Областью 1: ${}_{57}\text{LGPVVDKGGHDVTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Областью 2: ${}_{86}\text{RRPIRNLTFQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и Областью 3: ${}_{148}\text{VVEIRHHHSEHRVHGAM}_{165}$ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и необязательно при этом связывание является наиболее сильным с Областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;

о конкурирует за связывание с hVISTA (двусторонняя конкуренция) с одним или несколькими антителами, описанными в настоящем документе, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;

о имеет низкое мишень-опосредованное распределение лекарственного средства, что приводит к среднему времени удержания (MRT), составляющему по меньшей мере 100, 200, 300, 400, 500, 600 или 700 часов, измеренному, например, как описано в Примерах;

о имеет низкий или неопределяемый уровень TMDD; и/или

о имеет низкий или неопределяемый уровень нейтропении.

92. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 со значением K_D (и/или k_{off}), которое по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ab:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о усиливает активацию Т-клеток, например, путем усиления пролиферации Т-клеток; усиления продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах;

о контактирует с (i) H121, H122 и/или H123, или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстрема (Å) или менее), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в Примерах;

о связывается с Областью 1: ${}_{57}\text{LGPVDKGHDVTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Областью 2: ${}_{86}\text{RRPIRNLTFQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и Областью 3:

¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME₁₆₅ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, и необязательно при этом связывание является наиболее сильным с Областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;

о конкурирует за связывание с hVISTA (например, путем двусторонней конкуренции) с одним или несколькими антителами, описанными в настоящем документе, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;

о имеет низкое мишень-опосредованное распределение лекарственного средства, что приводит к среднему времени удержания (MRT), составляющему по меньшей мере 100, 200, 300, 400, 500, 600 или 700 часов, измеренному, например, как описано в Примерах;

о имеет низкие или неопределяемые уровни TMDD; и/или

о имеет низкие или неопределяемые уровни нейтропении.

93. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-92, где антитело имеет изоэлектрическую точку (pI) от 6,5 до 6,8, как измерено, например, с помощью iCIEF.

94. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-93, где антитело проявляет низкую агрегацию, например, агрегацию, сходную или более низкую, чем агрегация VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в Примерах.

95. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-94, где антитело демонстрирует вязкость, сходную или более низкую, чем вязкость VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), как определено в Примерах.

96. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-95, где антитело демонстрирует гидродинамический радиус, сходный или более низкий, чем гидродинамический радиус VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в Примерах.

97. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-96, где антитело демонстрирует температуру плавления (T_m), сходную или более высокую, чем температуру плавления VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в Примерах (например, в примере 16).

98. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-97, где антитело демонстрирует количество высокомолекулярных соединений, аналогичное или более низкое, чем количество высокомолекулярных соединений VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в Примерах (например, в примере 16).

99. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-98, которое представляет собой антитело IgG.

100. Выделенное антитело по варианту осуществления 99, которое представляет собой антитело IgG1, IgG2 или IgG4 (IgG4 необязательно с заменой S228P (нумерация ЕС)).

101. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-100, где антитело представляет собой антитело, не имеющее эффекторной функции, например, лишенное ADCC и/или CDC, и/или антитело, которое не связывается значительно с одним или несколькими фрагментами Fc γ R, например, Fc γ RIII.

102. Выделенное антитело по варианту осуществления 101, где константная область содержит 1-5 мутаций в константной области тяжелой цепи дикого типа, которые уменьшают эффекторную функцию (например, ADCC и/или CDC) антитела и/или способность связываться с одним или несколькими фрагментами Fc γ R, например, Fc γ RIII, по сравнению с соответствующей константной областью тяжелой цепи дикого типа.

103. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-102, где константная область антитела представляет собой IgG1.3, IgG1.1 или представляет собой IgG1 с заменой P238K (например, IgG1.P238K).

104. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-103, где антитело обладает эффекторной функцией и/или связывается с одним или несколькими фрагментами Fc γ R, например, Fc γ RIII.

105. Выделенное антитело по варианту осуществления 104, где антитело является афукозилированным (например, афукозилированное антитело IgG1).

106. Выделенное антитело по варианту осуществления 105, где константная область содержит 1-5 мутаций, которые усиливают эффекторную функцию антитела и/или способность связываться с одним или несколькими фрагментами FcγR, например, FcγRIII, по сравнению с соответствующей константной областью дикого типа.

107. Выделенное антитело или выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-106, где антитело представляет собой 41F11 или VISTA.4, или их вариант.

108. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-107, где вариант содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL, которые, в совокупности, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны аминокислотным последовательностям 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

109. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-108, где вариант содержит аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны аминокислотным последовательностям 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-50, 1-40, 1-30 или 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

110. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-109, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 17 или в Таблице последовательностей.

111. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-110, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 1 или в Таблице последовательностей.

112. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 83-111, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 17 или в Таблице последовательностей.

113. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-112, где антитело содержит аминокислотную последовательность VH анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 17 или в Таблице последовательностей.

114. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-113, где антитело содержит аминокислотную последовательность VL анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 17 или в Таблице последовательностей.

115. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-114, где антитело содержит аминокислотные последовательности VH и VL анти-VISTA антитела, раскрытого в примере 17 или в Таблице последовательностей.

116. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека и содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH 41F11 или VISTA.4, или аминокислотные последовательности, которые, в совокупности, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны аминокислотным последовательностям 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

117. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека и содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотные последовательности, которые, в совокупности, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны аминокислотным последовательностям 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

118. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-117, содержащее аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотные последовательности, которые, в совокупности, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны аминокислотным последовательностям 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

119. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-118, где антитело содержит аминокислотную последовательность VH 41F11 или VISTA.4, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична ей, или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

120. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-119, где антитело содержит аминокислотную последовательность VL 41F11 или VISTA.4, или

аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична ей или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

121. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-120, где антитело содержит аминокислотные последовательности VH и VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична им или содержат 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

122. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-121, где антитело содержит аминокислотную последовательность HC антитела против VISTA, раскрытую в примере 17 или Таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична ей или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

123. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-122, где антитело содержит аминокислотную последовательность LC антитела против VISTA, раскрытую в примере 17 или Таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична ей или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

124. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-123, где антитело содержит аминокислотные последовательности HC и LC антитела против VISTA, раскрытые в примере 17 или Таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична им или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотных замен, например, ее замещений.

125. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-124, где антитело содержит CDR-области VH VISTA.4 (SEQ ID No: 503-505), P1-070976 (SEQ ID No: 509-511), P1-065333 (SEQ ID No: 506-508), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 512-514) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 515-517).

126. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-125, где антитело содержит CDR-области VL VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 500-502).

127. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-126, где антитело содержит CDR-области VH и VL VISTA.4 (SEQ ID No: 503-505 и 500-502, соответственно), P1-070976 (SEQ ID No: 509-511 и 500-502, соответственно), P1-065333 (SEQ ID No: 506-508 и 500-502, соответственно), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 512-514 и 500-502, соответственно) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 515-517 и 500-502, соответственно).

128. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-127, где антитело содержит VH VISTA.4 (SEQ ID NO: 492), P1-070976 (SEQ ID NO: 474), P1-065333 (SEQ ID NO: 473), P1-070976_H95D (SEQ ID NO: 477) или P1-070976_E97P (SEQ ID NO: 478).

129. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-128, где антитело содержит VL VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (с A64G или без него) (соответствует SEQ ID NO: 493 (без A64G) или SEQ ID NO: 479 (с A64G)).

130. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-129, где указанное антитело содержит VH и VL (с A64G в VL или без него) VISTA.4 (SEQ ID No: 492 и 479 или SEQ ID No: 492 и 493), P1-070976 (SEQ ID No: 474 и 479 или SEQ ID No: 474 и 493), P1-065333 (SEQ ID No: 475 и 479 или SEQ ID No: 475 и 493), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 477 и 479 или SEQ ID No: 477 и 493) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 478 и 479 или SEQ ID No: 478 и 493).

131. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-130, где антитело содержит HC VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NO: 491), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NO: 476), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NO: 475), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO: 480) или P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO: 481).

132. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-131, где антитело содержит LC VISTA.4.IgG1.3, P1-070976.IgG1.3, P1-065333.IgG1.3, P1-070976_H95D.IgG1.3 или P1-070976_E97P.IgG1.3 (с A64G в VL или без него) (SEQ ID NO: 494 (без A64G) или SEQ ID NO: 482 (с A64G)).

133. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-132, где антитело содержит HC и LC (с A64G в VL или без него) VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NO: 491 и 494 или SEQ ID No: 491 и 482), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NO: 476 и 494 или SEQ ID No: 476 и 482), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NO: 475 и 494 или SEQ ID No: 475 и 482), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO: 480 и 494 или SEQ ID No: 480 и 482) или P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO: 481 и 494 или SEQ ID No: 481 и 482).

134. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-133, которое представляет собой полноразмерное антитело или антитело, содержащее полноразмерную тяжелую цепь (с С-концевым лизином или без него) и полноразмерную легкую цепь.

135. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-130, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

136. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-135, которое представляет собой мультимерное (например, димерное или тримерное) антитело.

137. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-136, которое связано (например, ковалентно) с другой молекулой.

138. Выделенное антитело по варианту осуществления 137, где другая молекула представляет собой метку.

139. Выделенное антитело по варианту осуществления 137 или 138, где другая молекула представляет собой пептид.

140. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-139, которое представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC) или активируемое антитело.

141. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из вариантов осуществления 1-140.

142. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела по любому из вариантов осуществления 1-140.

143. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь антитела по любому из вариантов осуществления 1-140, и нуклеиновую кислоту, кодирующую легкую цепь антитела.

144. Клетка, содержащая выделенную нуклеиновую кислоту по любому из вариантов осуществления 141-142 или композицию по варианту осуществления 143.

145. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки по варианту осуществления 144 в условиях, в которых антитело экспрессируется.

146. Композиция, содержащая выделенное антитело, нуклеиновую кислоту, композицию или клетку по любому из вариантов осуществления 1-145 и фармацевтически приемлемый носитель.

147. Композиция по варианту осуществления 146, содержащая второй терапевтический агент.

148. Композиция по варианту осуществления 147, где второй терапевтический агент представляет собой иммуностимулирующий агент.

149. Композиция по варианту осуществления 148, где иммуностимулирующий агент содержит антагонист иммуносупрессивной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонист иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

150. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из вариантов осуществления 1-149, которое стимулирует иммунный ответ и/или представляет собой антагонистическое антитело против VISTA.

151. Способ по варианту осуществления 150, где субъект имеет VISTA-положительные клетки, например, в опухоли рака.

152. Способ по варианту осуществления 151, где VISTA-положительные клетки содержат VISTA-положительные инфильтрирующие лимфоцитарные (например, Т-клетки) или миеломоноцитарные клетки.

153. Способ по любому из вариантов осуществления 150-152, где субъекта сначала тестируют на присутствие VISTA-положительных клеток в опухоли, и где субъекта лечат, если субъект имеет VISTA-положительные клетки, например, в опухоли.

154. Способ по любому из вариантов осуществления 150-153, где способ дополнительно включает проведение второй терапии.

155. Способ по варианту осуществления 154, где вторая терапия представляет собой химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство или введение второго агента.

156. Способ по варианту осуществления 155, где вторая терапия включает второй агент, и второй агент представляет собой иммуностимулирующий агент.

157. Способ по варианту осуществления 156, где иммуностимулирующий агент содержит антагонист иммунодепрессивной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонист иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

158. Способ лечения инфекционного заболевания (например, вирусного заболевания) у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из

вариантов осуществления 1-157, которое стимулирует иммунный ответ и/или является антагонистом VISTA.

159. Способ обнаружения VISTA в образце, включающий приведение образца в контакт с антителом против VISTA по любому из вариантов осуществления 1-140.

160. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует VISTA-опосредованную активацию Т-клеток, при этом антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH области VH, содержащей или состоящей из SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478, или 492 (например, SEQ ID NO: 503-505, 506-508, 509-511, 512-514 или 515-517).

161. Выделенное антитело по варианту осуществления 160, где антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL области VL, содержащей или состоящей из SEQ ID NO: 464, 471, 493 или 479 (например, SEQ ID NO: 500-502).

162. Выделенное антитело по варианту осуществления 160 или 161, где антитело содержит VH, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 или 492, с сигнальным пептидом или без него.

163. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 160-162, где антитело содержит VL, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 493, с сигнальным пептидом или без него.

164. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 160-163, содержащее константную область тяжелой цепи, содержащую или состоящую из IgG1 дикого типа (например, SEQ ID NO: 182), IgG2 дикого типа, IgG3 дикого типа, IgG4 дикого типа, IgG4 дикого типа, содержащего S228P, IgG1.1 (SEQ ID NO: 183), IgG1.3 (SEQ ID NO: 163), IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184), с С-концевым лизином или без него.

165. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 160-164, содержащее тяжелую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 475, 476, 491, 480 или 481, с сигнальным пептидом или без него.

166. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 160-165, содержащее легкую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 472, 494 или 482, с сигнальным пептидом или без него.

167. Выделенное антитело по варианту осуществления 166, содержащее тяжелую и легкую цепи, содержащие или состоящие из:

(a) SEQ ID NO: 475 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;

(b) SEQ ID NO: 475 и SEQ ID NO: 494, соответственно;

(c) SEQ ID NO: 476 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;

- (d) SEQ ID NO: 476 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (e) SEQ ID NO: 491 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (f) SEQ ID NO: 491 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (g) SEQ ID NO: 480 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (h) SEQ ID NO: 480 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (i) SEQ ID NO: 481 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно; или
- (j) SEQ ID NO: 481 и SEQ ID NO: 494, соответственно.

168. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активация Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что, например, приводит к увеличению количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, например, в опухоли субъекта.

169. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активация Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что, например, приводит к уменьшению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта.

170. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что, например, приводит к увеличению количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, например, в опухоли субъекта и уменьшению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта и/или других признаках, описанных в настоящем документе.

171. Способ по любому из вариантов осуществления 168-170, где антитело, которое специфически связывается с hVISTA, представляет собой антитело, описанное в настоящем документе.

Дополнительные конкретные иллюстративные варианты осуществления включают следующее:

1. Выделенное Ab, которое специфически связывается с hVISTA, где антитело содержит тяжелую и легкую цепь, причем (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 503, 504 и 505, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502, соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 463 или 492,

и легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 491, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494.

2. Выделенное Ab, которое специфически связывается с hVISTA, где антитело содержит тяжелую и легкую цепь, причем (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 503, 504 и 505, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502 соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 463 или 492, и легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 491, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494, или их вариант или производное, при этом Ab включает одну или несколько (или все) из следующих характеристик:

a. связывается с внеклеточным доменом hVISTA при pH 6,0 (например, со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее) и необязательно значительно не связывается с внеклеточным доменом hVISTA при pH 7,4;

b. ингибирует связывание hVISTA с Т-клеткой или PSGL-1, например, при кислом pH;

c. связывается с одним или несколькими из следующих энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, L115, V117, I119, S124 и E125, как определено с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS;

d. конкурирует за связывание с hVISTA с антителом, (i) содержащим тяжелую цепь, включающую VH, содержащую SEQ ID NO: 463 или 492, и легкую цепь, включающую VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (ii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 491, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494;

e. связывается с аминокислотными областями $^{86}\text{RRPIRNLTFQDL}^{97}$ hVISTA (SEQ ID NO: 497), а также, но менее сильно, с аминокислотами $^{57}\text{LGPVDKGHDVTF}^{68}$ (SEQ ID NO: 498) и $^{148}\text{VVEIRHHHSEHRVHGAME}^{165}$ (SEQ ID NO: 499);

f. ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками, например, при кислом pH;

g. усиливает пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN-гамма Т-клетками, например, при кислом pH;

h. ослабляет супрессию белком hVISTA опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF-kB, например, при кислом pH;

i. имеет низкие или неопределяемые уровни TMDD; и/или

j. имеет низкий или неопределяемый уровень нейтропении.

3. Выделенное Ab, которое специфически связывается с hVISTA, где антитело содержит тяжелую и легкую цепь, где (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 506, 507 и 508, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502, соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 473, и легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 475, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494.

4. Выделенное Ab, которое специфически связывается с hVISTA, где антитело содержит тяжелую и легкую цепь, где:

a. (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 509, 510 и 511, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502, соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 474, а легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 476, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494;

b. (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 512, 513 и 513, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502, соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 477, и легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 480, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494; или

c. (i) тяжелая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие SEQ ID NO: 515, 516 и 517, соответственно, и легкая цепь включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие SEQ ID NO: 500, 501 и 502, соответственно; (ii) тяжелая цепь включает VH, содержащую SEQ ID NO: 478, и легкая цепь включает VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (iii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 481, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494;

где антитело:

(1) связывается с внеклеточным доменом hVISTA при pH 6,0 (например, со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее), но в незначительной степени при pH 7,4;

(2) ингибирует связывание hVISTA с Т-клеткой или PSGL-1, например, при кислом pH;

(3) связывается с одним или несколькими из следующих энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, L115, V117, I119, S124 и E125, как определено с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS;

(4) конкурирует за связывание с hVISTA с антителом (i), содержащим тяжелую цепь, включающую VH, содержащую SEQ ID NO: 463 или 492, и легкую цепь, включающую VL, содержащую SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 482; и/или (ii) тяжелая цепь содержит SEQ ID NO: 491, и легкая цепь содержит SEQ ID NO: 472, 482 или 494;

(5) связывается с аминокислотными областями ⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷ hVISTA (SEQ ID NO: 497), а также, но менее сильно, с аминокислотами ⁵⁷LGPVDKGHDVTF⁶⁸ (SEQ ID NO: 498) и ¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME¹⁶⁵ (SEQ ID NO: 499);

(6) ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками, например, при кислом pH;

(7) усиливает пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN-гамма Т-клетками, например, при кислом pH;

(8) ослабляет супрессию белком hVISTA опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF-kB, например, при кислом pH;

(9) имеет низкие или неопределяемые уровни TMDD; и/или

(10) имеет низкие или неопределяемые уровни нейтропении.

Дополнительные конкретные варианты осуществления описаны в разделе формулы изобретения данного раскрытия.

ПРИМЕРЫ

Обсуждаемые ниже примеры предназначены исключительно для иллюстрации изобретения и никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие изобретение. Примеры не предназначены для демонстрации того, что приведенные ниже эксперименты являются всеми или единственными выполненными экспериментами. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых чисел (например, количеств, температуры и т.п.), однако следует учитывать некоторые ошибки и отклонения в экспериментах. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура дана в градусах Цельсия, а давление представляет собой атмосферное или близкое к атмосферному.

Пример 1: Внеклеточный домен VISTA исключительно богат гистидинами

Этот пример показывает, что внеклеточный домен VISTA исключительно богат остатками гистидина, что эти остатки гистидина являются эволюционно

консервативными, и что они могут способствовать рецептор-лигандным взаимодействиям с участием VISTA.

Аминокислотные последовательности внеклеточных доменов (ECD) белков, содержащих домен иммуноглобулина, извлекали из баз данных Uniprot и Swiss-Prot и анализировали на содержание гистидина. На фигуре 1A показаны результаты этого анализа в виде графика. Для каждого белка частота остатков гистидина в виде процента от всех аминокислотных остатков внеклеточного домена отложена по оси y, а общее количество аминокислотных остатков внеклеточного домена отложено по оси x. Диаметр каждой точки данных соответствует общему количеству остатков гистидина во внеклеточном домене каждого белка. VISTA (меченый) содержит исключительно высокую частоту остатков гистидина в своем внеклеточном домене.

Затем оценивали эволюционную консервативность остатков гистидина в VISTA. На фигуре 1B показано выравнивание сравниваемых аминокислотных последовательностей VISTA человека, яванского макака и мыши, за исключением сигнальных пептидов («Sig»), трансмембранных доменов («TMD») и внутриклеточных доменов. Остатки гистидина, которые являются консервативными по всем трем видам, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. Остатки гистидина, которые являются консервативными для VISTA человека и яванского макака, выделены жирным шрифтом без подчеркивания. Многие из остатков гистидина внеклеточного домена VISTA являются эволюционно консервативными, что свидетельствует о важной биологической роли высокого содержания гистидина в VISTA.

Трехмерную модель IgV-домена hVISTA создавали на основе анализа гомологии последовательностей с доступными разрешенными структурами в базе данных PDB. Модель, показанная на фигуре 1C, указывает на то, что многие гистидины в ECD VISTA экспонируются на поверхности молекулы, где они могут участвовать в связывании с лигандом, а также в распознавании антител. Остатки гистидина изображены в виде шариков и палочек.

Пример 2: Протонирование гистидина может регулировать рецептор-лигандное взаимодействие VISTA и иммуносупрессивную активность в опухолях и других кислых средах

В этом примере описано протонирование гистидина в ответ на физиологически релевантный кислый pH, а также модель, в которой гистидины внеклеточного домена VISTA наделяют контррецептор или лиганд селективностью в отношении кислого pH, а не физиологического pH.

На фигуре 2А показано равновесие между отсутствием и присутствием протонирования аммониевой группы (NH) пиррола в остатке гистидина. Значение рКа гистидина в растворе равно 6,5, что указывает на то, что остатки гистидина с большей вероятностью будут протонированы при рН 6,5 и ниже и, следовательно, заряжаться положительно, чем при более высоком рН. Увеличение положительного заряда на поверхности ECD VISTA в результате протонирования может влиять на связывание рецептора или лиганда, а также на структуру и/или функцию VISTA. Таким образом, изменения рН также могут модифицировать связывающие антитела эпитопы и/или приводить к различным аффинностям антител.

На фигуре 2В показана модель, в которой VISTA избирательно взаимодействует с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами («VISTA-R») при кислом рН. Ожидается, что при физиологическом рН, таком как в крови, остатки гистидина на ECD VISTA не будут протонированы. В результате связывание VISTA с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами является незначительным при физиологическом рН. Напротив, в локализациях, которые склонны иметь кислый внеклеточный рН, таких как микроокружение опухоли или участки воспаления, кислый рН может частично или полностью управлять протонированием гистидина ECD VISTA и, таким образом, обеспечивать взаимодействие VISTA с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами. Соответственно, антитела, которые прочно связываются с белками VISTA-ECD в кислых диапазонах рН, могут быть более эффективными в отношении ингибирования активности VISTA в опухолях.

Пример 3: VISTA экспрессируется миеломоноцитарными клетками в опухолях

В этом примере показано, что VISTA часто экспрессируется миеломоноцитарными клетками в опухолях, включая макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты.

Хирургически удаленные образцы немелкоклеточной карциномы легкого, светлоклеточной карциномы почек, меланомы, колоректальной карциномы и других опухолей промывали ледяным PBS, разрезали на кусочки размером приблизительно 15 мм³ и суспендировали в ледяной среде RPMI-1640 (номер по каталогу Fisher Scientific 11875093), дополненной 2% инактивированной нагреванием FBS и 2 мМ EDTA (Fisher Scientific 15575020). Каждый образец переносили в гомогенизатор Даунса (Large Clearance Glass Dounce, Tenbroeck Tissue Grinders) и измельчали до тех пор, пока кусочки ткани не были визуальным образом отделены друг от друга. Суспензии фильтровали

через нейлоновое сито 70 мкм и центрифугировали. Супернатанты удаляли и клеточные осадки ресуспендировали при комнатной температуре в среде PBS, дополненной 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 250 мг/мл стерильно фильтрованной ДНКазы 1 (II стадия, из поджелудочной железы крупного рогатого скота, номер по каталогу Roche 10104159001) в течение 3 минут при комнатной температуре. Затем клетки промывали ледяной RPMI с добавками и ресуспендировали в ледяной PBS. Добавляли краситель для оценки жизнеспособности клеток и клетки инкубировали на льду в темноте. Через 20 минут неспецифическое окрашивание антител блокировали добавлением 4% нормальной крысиной сыворотки, 4% нормальной мышиной сыворотки, 20% человеческой сыворотки из плазмы АВ и разбавленного в соотношении 1:125 раствора Human TruStain FcX™ (номер по каталогу Biolegend 422302). Клетки окрашивали флуорофор-конъюгированными антителами против HLA-DR (номер по каталогу BD Biosciences 564040), CD8 (номер по каталогу Fisher Scientific 46-0087-42), CD14 (номер по каталогу Biolegend 325620), CD45 (номер по каталогу Biolegend 304017), CD4 (номер по каталогу BD Biosciences 563875), CD11c (номер по каталогу BD Biosciences 744439), CD15 (номер по каталогу BD Biosciences 563142), PD-1 (номер по каталогу BD Biosciences 565299), CD3 (номер по каталогу BD Biosciences 565515), CD56 (номер по каталогу Fisher Scientific 61-0567-42), CD19 (номер по каталогу BD Biosciences 564977) и VISTA (антитело VISTA 3, конъюгированное с AlexaFluor™ 647, номер по каталогу Fisher Scientific A20186), суспендировали в Brilliant Stain Buffer (номер по каталогу BD Biosciences 562794) в течение 30 минут на льду в темноте. Окрашенные клетки промывали ледяным PBS, фиксировали (номер по каталогу Fisher Scientific 00-5523-00) и измеряли на проточном цитометре. Данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo™ (BD Biosciences). Как показано на фигуре 3, экспрессия VISTA на клеточной поверхности была самой высокой на макрофагах и гранулоцитах, умеренной на дендритных клетках и низкой на Т-клетках, естественных клетках-киллерах и В-клетках.

Пример 4: Связывание клеток с VISTA демонстрирует селективность в отношении кислого pH

Этот пример показывает, что мультимеризованный ECD VISTA человека более эффективно связывается со стимулированными человеческими CD4⁺ Т-клетками и мононуклеарными клетками периферической крови человека при кислом pH, чем при нейтральном или физиологическом pH, и что это связывание может быть заблокировано

при помощи блокирующего антитела против VISTA человека. Также, показано селективное в отношении кислого pH связывание димеризованного ECD VISTA мыши со мышинными спленоцитами.

Человеческие CD4⁺ Т-клетки обогащали из крови здоровых доноров с использованием набора RosetteSep™ (Stemcell, номер по каталогу 15062) и стимулировали *in vitro* в течение приблизительно четырех дней с использованием Human T-Activator CD3/CD28 Dynabeads™ (номер по каталогу Fisher Scientific 111.32D) и рекомбинантного человеческого IL-2 (номер по каталогу Peprotech 200-02) в среде RPMI-1640, дополненной 10% инактивированной нагреванием FBS, GlutaMax™ (номер по каталогу Fisher Scientific 35050061), заменимыми аминокислотами (Fisher Scientific 11140050), пируватом натрия (номер по каталогу Fisher Scientific 11360070) и 2-меркаптоэтанолом (Fisher Scientific 21985023). Активированные CD4⁺ Т-клетки окрашивали молекулами монобиотинилированного ECD hVISTA (Phe 33 - Ala 194 (номер доступа ААН20568)-полигистидин; AcroBiosystems, Inc. B75-H82F3), которые нагружали в молярном соотношении 28:1 на фикоэритрин (PE)-конъюгированные декстранеры стрептавидина (номер по каталогу DX01-PE), разбавляли в забуференном солевом растворе Хэнка (HBSS, номер по каталогу Fisher Scientific 14025134), подкисляли до различных значений pH с помощью mM MES (Sigma, 1317-100ML) в течение 30 минут при комнатной температуре. В качестве контроля активированные CD4⁺ Т-клетки окрашивали PE-конъюгированными декстранерами стрептавидина, которые не нагружали hVISTA. Окрашенные клетки промывали HBSS + MES и измеряли на проточном цитометре. Данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo™ (BD Biosciences). Результаты, показанные на фигуре 4А, демонстрируют, что hVISTA не связывался с CD4⁺ Т-клетками лучше, чем контроль при pH > 6,5. Напротив, hVISTA продемонстрировал постепенно возрастающее связывание с CD4⁺ Т-клетками при pH < 6,5. Слева, от темно-серого к более светлому, закрасненные гистограммы отражают связывание при pH 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 и 6,0. Некоторые гистограммы помечены соответствующим pH. Связывание не-VISTA контрольного мультимера при pH 6,0 показано в виде незакрашенной гистограммы. Справа нанесены средние интенсивности флуоресценции PE (MFI) CD4⁺ Т-клеток, окрашенных hVISTA-нагруженными декстранерами (синие кружки) или не нагруженными декстранерами (треугольники), при различных значениях pH.

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) обогащали из крови здоровых доноров путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла (Ficoll-

Raque Plus, GE Life Sciences, номер по каталогу 17144003) и окрашивали hVISTA-нагруженными декстрамерами (также называемыми мультимерами) и конъюгированными с флуорофором, разбавляли в буферах HBSS + MES, как описано выше. На фигуре 4B показаны гистограммы, на которых показано, от темно-серого к более светлому, связывание при pH 6,0 с CD19+ В-клетками, CD4+ Т-клетками, CD8+ Т-клетками, CD56+ NK-клетками и CD14+ моноцитами. Незакрашенные гистограммы, гистограммы с жирными границами и гистограммы с пунктирными границами отображают связывание при pH 7,4 с общими лимфоцитами и моноцитами PBMC, соответственно. Результаты показывают, что hVISTA может связываться со многими лейкоцитами при кислом pH, но незначительно при физиологическом pH.

Активированные CD4+ Т-клетки человека окрашивали мультимерами hVISTA при pH 6 в присутствии титрованного антитела против человеческого VISTA или изотипически сходного не-VISTA-специфического антитела. Результаты, представленные на фигуре 4C, показывают MFI мультимера VISTA относительно концентрации антител. Анти-hVISTA антитело (антитело VISTA 3; квадраты), но не не-VISTA-специфическое контрольное антитело (кружки), блокировало связывание hVISTA с активированными CD4+ Т-клетками зависимым от концентрации образом. PE MFI CD4+ Т-клеток, которые не были окрашены hVISTA-нагруженными мультимерами, включали в качестве контроля (один треугольник).

На фигуре 4D показаны репрезентативные двумерные диаграммы проточной цитометрии окрашивания мультимером VISTA при pH 6,0 гепарансульфат-мутантных клеток яичника китайского хомячка (CHO) (линия pGSD-677, American Type Culture Collection), которые были трансфицированы для экспрессии полноразмерного человеческого PSGL-1 (SEQ ID NO: 3; нуклеиновая кислота NM_003006.4). Окрашивание проводили в присутствии или в отсутствие титрованного анти-VISTA блокирующего антитела (mAb 3). Клетки, оставленные неокрашенными мультимерами VISTA, показаны в качестве контроля. Окрашивание антителом против PSGL-1 (BD Biosciences, номер по каталогу 562758) отложено по оси y, и окрашивание мультимером VISTA отложено по оси x.

Спленоциты собирали у мышей C57BL/6/J (Jackson Laboratory, номер по каталогу 000664) и окрашивали химерными слитыми белками ECD mVISTA/Fc IgG человека (фрагмент, кристаллизующийся) с последующими флуорофор-конъюгированными вторичными антителами против Fc IgG человека (Jackson Immunoresearch, номер по каталогу 109-065-098) при pH 6,0 или 7,4. Результаты,

представленные с помощью гистограммы на фиг. 4Е, показывают, что mVISTA связывается с мышинными спленоцитами более эффективно при рН 6,0, чем при физиологическом рН (приблизительно рН 7,4). От темно-серого до более светлого, закрашенные гистограммы отображают связывание при рН 6,0 с CD8⁺ Т-клетками, CD11b⁺ миелоидными клетками и CD4⁺ Т-клетками. Незакрашенная гистограмма отображает связывание при рН 7,4 с общими спленоцитами. На фигурах 4F и G показано, что мультимер VISTA связывается с моноцитами и нейтрофилами, соответственно, и это происходит сильнее при рН 6,0, чем при рН 7,4.

Пример 5: VISTA селективно опосредует межклеточную адгезию и подавление иммунного ответа при кислом рН

В этом примере показано, что VISTA опосредует межклеточную адгезию и подавляет активацию Т-клеток более эффективно при кислом рН, чем при нейтральном или физиологическом рН.

Проводили анализ конъюгата клетка/клетка на основе проточной цитометрии, совместимый с кислым рН. Клетки 293Т (иммортилизованная линия клеток эмбриональной почки человека, номер по каталогу ATCC CRL-3216), эктопически экспрессирующие полноразмерный человеческий VISTA или вектор, метили CFSE (сложный сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина, номер по каталогу Fisher Scientific C34554). Клетки CHO метили CellTrace™ Far Red (номер по каталогу Fisher Scientific C34564). Клетки 293Т, экспрессирующие вектор или VISTA, смешивали в соотношении 1:1 с клетками CHO в буферах при рН 7,0 или рН 6,0 и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Образование конъюгатов клетка/клетка CHO и 293Т измеряли с помощью проточной цитометрии. Результаты, показанные на фигурах 5А-В, демонстрируют, что VISTA-экспрессирующие клетки 293Т преимущественно прикрепляются к клеткам CHO при кислом рН, и что включение анти-VISTA блокирующего антитела (VISTA mAb 3; красные столбцы) ингибирует опосредованную VISTA межклеточную адгезию.

Проводили анализ супрессии Т-клеток, совместимый с кислым рН. Клетки Jurkat (иммортилизованная человеческая Т-клеточная линия, номер по каталогу ATCC TIB-152), экспрессирующие люциферазный репортер под контролем промотора NFκB, совместно культивировали в буферах HBSS + MES при различных значениях рН с клетками 293Т (иммортилизованная линия клеток эмбриональной почки человека, номер по каталогу ATCC CRL-3216), эктопически экспрессирующими полноразмерный человеческий VISTA и одноцепочечный переменный фрагмент клона ОКТ3

агонистического антитела против человеческого Т-клеточного рецептора, в соотношении 10:1 клеток Jurkat:293Т. Анти-VISTA блокирующее антитело (VISTA mAb 3) или изотипически сходное не-VISTA-специфическое контрольное антитело добавляли при концентрации 10 мкг/мл к сокультурам. После инкубации активацию Т-клеток Jurkat количественно оценивали путем измерения активности люциферазы (интервал в 1 секунду, номер по каталогу Promega G7940). Результаты показаны на фигурах 5C-D. На фигуре 5C показан график люциферазных единиц в Jurkats, обработанных анти-VISTA (красные квадраты) или контрольным антителом (синие кружки) при различных значениях pH. На фигуре 5D показан график сигнала люциферазы в сокультурах, обработанных анти-VISTA антителом, деленного на сигнал люциферазы в сокультурах, обработанных контрольным антителом, при каждом тестируемом значении pH. Результаты показали, что VISTA-опосредованная супрессия Т-клеток является наиболее сильной при кислом pH.

Пример 6: VISTA проходит через внутриклеточно рециркулирующие эндосомы

В этом примере показано, что VISTA может обнаруживаться во внутриклеточных эндосомах, в частности, в рециркулирующих эндосомах Rab11+, и может рециркулировать на клеточную поверхность и с нее посредством эндосомального трафика. Сила, с которой анти-VISTA антитело связывается с VISTA при кислом pH, влияет на его способность оставаться связанными с VISTA во время эндосомального трафика.

Моноциты выделяли из PBMC методом магнитно-активированной сортировки клеток. Затем моноциты и клетки 293Т фиксировали в 4% параформальдегиде и внутриклеточно окрашивали на Rab5, Rab7 или Rab11, а также анти-VISTA или контрольным антителом. Контрольное антитело («сAb»), которое представляет собой не связывающееся с VISTA антитело того же изотипа, что и анти-VISTA антитело, не связывается определяемым образом с моноцитами или клетками 293Т, экспрессирующими VISTA человека. Анти-VISTA и контрольные антитела напрямую метили Alexa488. Антитела к Rab обнаруживали с использованием Alexa594-конъюгированного вторичного антитела против кроличьего Ig. Окрашивание Hoechst 33342 проводили для идентификации ядер клеток. Изображения получали с помощью конфокального микроскопа с вращающимся диском. На **фигуре 6A** показана солокализация VISTA, Rab5 (маркер ранних эндосом), Rab7 (маркер поздних эндосом) и Rab11 (маркер рециркулирующих эндосом) в клетках 293Т, экспрессирующих VISTA

человека. На **фигуре 6B** показана солокализация VISTA и Rab11 в моноцитах человека. Внутриклеточный VISTA солокализован с рециркулирующими эндосомами Rab11+.

Для оценки способности VISTA рециркулировать через эндосомы выполняли анализ эндолизосомно-зависимого уничтожения конъюгата антитело-лекарственное средство с тремя анти-hVISTA антителами (VISTA mAb 1, 2 и 3) с различными свойствами связывания с VISTA при физиологическом и кислом pH. Сначала выполняли анализ SPR для сравнения профилей связывания hVISTA для всех трех антител VISTA при pH 7,4, 6,7 и 6,0. Антитела VISTA захватывали на биосенсоре Biacore® T100 (GE Healthcare) CM5, содержащем иммобилизованный Белок А, затем 100 нМ hVISTA-ECD (аминокислоты 32-193 SEQ ID NO: 1 с хвостом из 7 остатков гистидина (7xHis), т.е. AFKVATPYSL YVCPEGQNVLTLCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHN GGHQAANTSH DLAQRHGLASDHHGNFSI TMRNLTLDS GLYCCLVVEI RHHNSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENITANNHHHHH; SEQ ID NO: 325) вливали в рабочий буфер PBST при указанном pH при 37 °C. Сенсограммы за вычетом фоновых значений нормализовали к контрольной точке «связывания» и наносили на график. Антитело VISTA 3, «mAb 3» (фигура 6C, вверху) продемонстрировало наибольшую степень ослабления связывания с VISTA при кислом pH, за ним следовало антитело VISTA 2, «mAb 2» (фигура 6C, в середине), которое было только умеренно ослабленным. Антитело VISTA 1, «mAb 1», сохраняло сильное связывание с VISTA в условиях кислого и физиологического pH (фигура 6C, внизу).

Анализ зависимого от эндолизосом уничтожения клеток конъюгатом антитело-лекарственное средство выполняли следующим образом. Клетки AML3 (иммортилизованная линия клеток моноцитов человека, ATCC CRL-9589), которые эндогенно экспрессируют VISTA человека, культивировали с титрованными анти-VISTA антителами или не-VISTA-специфическим контрольным антителом и вторичным антителом против человеческого IgG, которое было конъюгировано с катепсин В-чувствительным линкером и цитотоксической полезной нагрузкой тубулизина. Поскольку катепсин В преимущественно активен в поздних эндосомах и лизосомах, анти-VISTA антитела, которые рециркулируют с VISTA через ранние эндосомы и рециркулирующие эндосомы, будут испытывать низкие уровни расщепления линкера и, как результат, низкие уровни высвобождения цитотоксической полезной нагрузки и гибели клеток. Анти-VISTA-антитела, которые отделяются от VISTA в кислых эндосомах и сортируются на поздние эндосомы и лизосомы, будут

испытывать более высокие уровни расщепления линкера. Жизнеспособность клеток измеряли с помощью Cell Titer Glo® (номер по каталогу Promega G7573) после пяти дней культивирования. На фигуре 6D показаны результаты этого анализа, при этом жизнеспособность AML3 (Cell Titer Glo) нанесена по оси y, и концентрации первичных антител нанесены по оси x. Рассчитанные значения EC50 для первичных антител: антитело VISTA 1, перевернутые треугольники, 0,485 мкг/мл; антитело VISTA 2, кружки, 0,092 мкг/мл; антитело VISTA 3, квадраты, 0,006 мкг/мл; контроль, треугольники, 1,085 мкг/мл. Эффективность антител обратно пропорциональна связыванию анти-VISTA антител при кислом pH.

Для подтверждения того, что связывание при кислом pH отвечает за различия в эффективности, антитело VISTA 3 оптимизировали по аффинности таким образом, что его способность связываться с VISTA при кислом pH была улучшена. На фигуре 6E показан анализ SPR, сравнивающий профили связывания антител с hVISTA антитела VISTA 3 с этим вариантом, антителом VISTA 3с, с использованием условий анализа, описанных для фигуры 6C. Антитело VISTA 3 снова продемонстрировало ослабление связывания с VISTA при кислом pH, тогда как вариант антитела VISTA 3с продемонстрировал сопоставимое связывание VISTA при кислом и физиологическом pH. На фигуре 6F показана активность антитела VISTA 3с (ромбы) в анализе уничтожения, описанном для фигуры 6D. Независимый от pH вариант антитела VISTA 3 показал в 31 раз более низкую эффективность по сравнению с исходным антителом, что указывает на то, что ослабленное связывание анти-VISTA антитела при кислом pH приводит к утрате связывания антитела во время рециркуляции VISTA.

На основании этих результатов предлагается модель рециркуляции, в которой VISTA рециркулирует на клеточную поверхность и с нее через ранние эндосомы и рециркулирующие эндосомы. Эта модель изображена на фигуре 6G. Анти-VISTA антитела могут рециркулировать с VISTA через эти эндосомы, поддерживая взаимодействие с мишенью. Однако анти-VISTA антитела с ослабленным связыванием с VISTA при кислом pH, в частности, антитела с быстрой скоростью диссоциации при кислом pH, могут отделяться от VISTA во время рециркуляции и захватываться или разлагаться внутри клеток, что приводит к плохому взаимодействию с мишенью и постоянному потреблению циркулирующих антител. Напротив, антитела, которые связываются и остаются связанными с VISTA при кислом pH, могут поддерживать более высокие уровни взаимодействия с мишенью, особенно в кислой среде, такой как опухоли, и проявлять более длительные средние времена удержания *in vivo*.

Пример 7: Превосходство антител против VISTA, лишенных связывания при физиологическом pH

Авторы изобретения показали, что VISTA представляет собой селективный в отношении кислого pH иммунорецептор, демонстрируя важность и полезность нацеливания на VISTA антител, которые хорошо связываются при кислом pH. Кроме того, антитела, которые не связываются или незначительно связываются с VISTA при физиологическом pH, имеют преимущество по нескольким причинам. Во-первых, из-за относительно высокой экспрессии VISTA на циркулирующих миеломоноцитарных клетках, в частности, моноцитах и нейтрофилах, антитела, которые связываются с VISTA при физиологическом pH, подвергаются высоким уровням опосредованного мишенью распределения лекарственного средства (TMDD) в крови. Этот эффект усугубляется склонностью VISTA к рециркуляции через внутриклеточные эндосомы, что приводит к интернализации и деградации анти-VISTA антитела. Этот вторичный эффект особенно критичен для антител, которые имеют ослабленное связывание при кислом pH, как можно наблюдать для антител, которые связываются с VISTA в богатой гистидином контактной области лиганда. Оба эффекта будут уменьшать количество анти-VISTA антитела в кровотоке, уменьшая количество антитела, которое достигнет опухоли, и, следовательно, предполагаемую биологическую активность антитела. Во-вторых, антитела, которые связываются с VISTA при физиологическом pH и которые обладают эффекторными функциями, такими как индукция антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), антитело-зависимого клеточного фагоцитоза (ADCP) или доставка иммуномодулирующей полезной нагрузки, будут подвергать циркулирующие миеломоноцитарные клетки этим эффекторным функциям, потенциально приводя в результате к нежелательным эффектам, таким как истощение или активация циркулирующих нейтрофилов. Таким образом, авторы изобретения обнаружили, что антитела, связывающиеся с huVISTA при кислом pH, но незначительно при физиологическом pH, имеют двойное преимущество: (1) лучшее воздействие в соответствующих участках, таких как опухоли, и (2) уменьшенная токсичность в случае антител с эффекторными функциями, такими как ADCC, ADCP или доставка иммуномодулирующей полезной нагрузки. Кроме того, поскольку VISTA сам по себе является иммунорецептором, селективным в отношении кислого pH, блокада контактной области лиганда VISTA при физиологическом pH, вероятно, необязательна для модулирования рецептор-лигандной активности VISTA. Таким

образом, антитела, которые связываются с huVISTA при кислом pH, но незначительно при физиологическом pH, получали, как описано ниже.

Пример 8: Выделение анти-VISTA антител, связывающихся преимущественно с VISTA человека при кислом pH выше физиологического pH

В этом примере описано получение антител, которые связываются преимущественно с VISTA человека при низком (кислом) pH по сравнению с нейтральным или физиологическим pH.

Библиотеку анти-VISTA антигенсвязывающих фрагментов антител конструировали и подвергали скринингу следующим образом. Библиотеки антител создавали с использованием генетического материала, выделенного от мышей HuMab, иммунизированных полноразмерным VISTA человека (hVISTA). Эти антитела форматировали как scFv и отбирали по связыванию с полноразмерным hVISTA при низком pH (pH 6,0) посредством мPHK-дисплея (Xu L et al. (2002) *Chemistry & Biology* 9: 933; Roberts RW and JW Szostak (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297; Kurz et al. (2000) *Nucleic Acids Res.* 28(18):E83). Результат отбора анализировали с помощью секвенирования следующего поколения (NGS), и члены библиотеки, которые продемонстрировали обогащение в отношении связывания с VISTA при низком pH, были идентифицированы, переформатированы в IgG 1.3 (не имеющая эффекторной функции константная область IgG1, состоящая из Fc IgG1 с аминокислотными мутациями L234A, L235E и G237A) и подвергали скринингу на связывание с VISTA с помощью SPR.

Анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) выполняли для измерения констант скоростей ассоциации (обозначенных как k_a или k_{on} , единица измерения $M^{-1}s^{-1}$), констант скоростей диссоциации (обозначенных как k_d или k_{off} , единица измерения s^{-1}) и констант аффинности (обозначенных как K_D , единица измерения M) для VISTA Abs при кислом и физиологическом pH с использованием прибора Biacore® T200 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу Fisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 mM ацетате натрия, pH 4,5, и иммобилизовали на проточные ячейки биосенсора CM5, следуя протоколу аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате чего плотность иммобилизации Белка A составила 6000 RU на проточную ячейку. Эксперименты SPR проводили при 37 °C с использованием рабочего буфера PBST (137 mM хлорида натрия, 2,7 mM хлорида калия, 10 mM фосфатный буфер, 0,05% Твин 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела разбавляли до 20 нМ в PBST при pH 7,4 и захватывали активными проточными ячейками

биосенсора со скоростью 5 мкл/мин в течение 50 секунд. Серии концентраций 50-0,2 нМ одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) готовили в рабочих буферах при pH 7,4 и 6,0, и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инъекции 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скоростей k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фона при 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1, используя программное обеспечение Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Для каждого антитела VISTA рассчитывали отношение k_{off} при pH 6/ k_{off} при pH 7,4, чтобы идентифицировать антитела, проявляющие медленные скорости диссоциации при кислом pH и быстрые скорости диссоциации при физиологическом pH.

Шесть антител, переформатированных в антитела IgG1.3, продемонстрировали почти эквивалентную аффинность при pH 6 и при pH 7,4. В частности, два антитела имели более медленную скорость диссоциации при pH 6,0, чем при pH 7,4 (т.е. более быструю k_{off} при pH 7,4, чем при pH 6,0). Варибельные области этих двух антител против huVISTA обозначаются как P1-061015 и P1-061029, и антитела, содержащие эти варибельные области и отформатированные как антитела IgG1.3, обозначаются как P1-061015.IgG1.3 и P1-061029.IgG1.3, соответственно. Константы скоростей k_{off} P1-061015.IgG1.3 и P1-061029.IgG1.3 представлены в таблице 1.

Таблица 1: Константы k_{off} выбранных антител при pH 6,0 и pH 7,0

Название антитела	pH 6 k_{off} (с ⁻¹)	pH 7 k_{off} (с ⁻¹)	pH 6/pH 7 k_{off}
P1-061015.IgG1.3	$1,4 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-3}$	0,6
P1-061029.IgG1.3	$4,8 \times 10^{-3}$	$9,1 \times 10^{-3}$	0,5

Последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой и легкой цепей P1-061015 и P1-061029 представлены в таблице 2 ниже, а также показаны в Таблице последовательностей после раздела «Примеры» раскрытия.

Таблица 2: Аминокислотные последовательности антител против huVISTA, связывающихся с huVISTA преимущественно при pH 6,0, а не при pH 7,4

P1 ID	VH-ген	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
P1-061015.IgG1.3	3-33	GFTFSSYAMH (SEQ ID NO: 95 Остатки 26-35)	IIWYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 95 Остатки 50-66)	DSGFYSSYYFDY (SEQ ID NO: 95 Остатки 99-110)
P1-061029.IgG1.3	3-09	GFTLDDYAMH (SEQ ID NO: 67)	GINWNSANIGYADSVKG (SEQ ID NO: 67 Остатки)	VPGYSGGWIDAFDV (SEQ ID NO: 67)

		Остатки 26-35)	50-66)	Остатки 99-112)
	VL-ген	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
P1-061015.IgG1.3	L6	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 96 Остатки 24-35)	DASNRAT (SEQ ID NO: 96 Остатки 51-57)	QQYNSYPYT (SEQ ID NO: 96 Остатки 90-98)
P1-061029.IgG1.3	A27	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 68 Остатки 24-35)	GASSRAT (SEQ ID NO: 68 Остатки 51-57)	QQYGSSPFT (SEQ ID NO: 68 Остатки 90-98)

Пример 9: Дальнейшее конструирование анти-VISTA Abs P1-061015 и P1-061029 для разработки антител, селективных в отношении кислого pH

В этом примере описано дальнейшее конструирование переменных областей P1-061015 и P1-061029, идентифицированных в примере 2, для получения анти-huVISTA переменных областей, которые имеют более высокое отношение k_{off} между связыванием при pH 6,0 относительно pH 7,4.

Две библиотеки создавали путем введения специфических мутаций в CDR-области VH P1-061015 и P1-061029, соответственно. В библиотеках допускались только аминокислотные замены, которые с наибольшей вероятностью улучшали связывание при низком pH, т.е. аспарат, глутамат и гистидин. Библиотека также допускала единичные и двойные аминокислотные замены в каждой CDR и рекомбинации в CDR-областях (максимум 6 аминокислотных замен на цепь). На фигуре 7A показаны мутации, которые были введены в аминокислотные последовательности CDR3 тяжелой цепи P1-061029 с образованием библиотеки P1-061029. На фигуре показано, что определенные последовательности были исключены, чтобы избежать введения отрицательных особенностей (например, DG).

Библиотеки '029 и '015 подвергали скринингу путем нескольких раундов связывания с полноразмерным huVISTA при pH 6,0 посредством дрожжевого поверхностного дисплея. Дальнейшие раунды отбора проводили путем переключения между позитивными (связывание при pH 6,0 с huVISTA) и негативными (связывание при pH 7,4 с huVISTA) (показано на фигуре 7B) отборами, при этом членов библиотеки, которые не связывались с VISTA при pH 7,4, собирали в раундах негативного отбора. Результат отбора анализировали с помощью NGS. Членов библиотеки '029, которые связывались с huVISTA при pH 6,0 после 9 раунда отбора, анализировали на связывание с VISTA человека при pH 6,0 и pH 7,4 с помощью проточной цитометрии. На фигуре 7C показаны репрезентативные двумерные графики проточной цитометрии, показывающие пул вариантов после 9 раундов отбора.

Связывание с VISTA отложено по оси y, а экспрессия вариантного антитела отложена по оси x. Показаны данные по связыванию при различных концентрациях антител и pH. Результаты продемонстрировали очень сильное pH б-селективное связывание с VISTA человека, в частности, при 20 нМ.

Дополнительные клоны потомства '029 выделяли из библиотеки '029 с использованием другого способа. Некоторые клоны были такими же, как те, которые были идентифицированы с помощью первого способа, и было выделено девять дополнительных клонов.

19 клонов, выделенных из библиотеки '029, отобранных для дальнейшего анализа, переформатировали в антитела IgG1.3. Различия по аминокислотам в CDR-областях тяжелой цепи этих клонов по сравнению с CDR-областями VH '029 показаны в таблице 5.

Таблица 5: Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH (разделенные подчеркиванием) антител, полученных из исходного антитела '029

Наименование	CDR1 (пол. 26-35)	CDR2 (пол. 50-66)	CDR3 (пол. 99-110)	SEQ ID NO
P1-061029	GFT LD Y AMH_GINWNS	A NI G YADSVKG_VPGYS	G GWIDAF D V	67
P1-068757	----E-E---_	-----EE-----	-----E-D	71
P1-068759	----E-E---_	---D---E-----	-----E-D	87
P1-068761	----E-E---_	-----EE-----	----H----E--	51
P1-068763	----E-----_	---D---E-----	----H----E--	91
P1-068765	---DE-----_	-----EE-----	-----E-D	63
P1-068767	----E-----_	---D---E-----	-----E-D	55
P1-068769	----E-E---_	-----DH-----	-----E-D	83
P1-068771	----E-E---_	-----HE-----	-----E-D	75
P1-068773	----E-----_	---D---D-----	-----E-D	59
P1-068775	----E-E---_	---D---EE-----	----H----E-D	79
P1-069059	----E-----_	-----DH-----	-----E-D	11
P1-069061	----E-----_	-----E-----	-----E-D	15
P1-069063	----E-----_	-----E-----	-----D-E	19
P1-069065	----E-E---_	-----DD-----	-----	23
P1-069067	-----_	-----EE-----	-----D-E	27
P1-069069	-----_	-----EE-----	-----D--	31
P1-069071	----E-E---_	-----D-----	-----E-----	35
P1-069073	----E-----_	---D---D-----	-----E-D	39
P1-069075	----E-----_	---D---E-----	----H----E--	43
P1-069077	----E-E---_	-----DE-----	-----	47

Связывание нескольких препаратов каждого из клонов потомства '029 и исходных антител '029, отформатированных в антитела IgG1.3, с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4 измеряли с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Анализ SPR выполняли для измерения показателей аффинности связывания k_{off} и K_D для VISTA Abs при кислых и нейтральных значениях pH с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5, и иммобилизовали на проточные ячейки биосенсора CM5 в соответствии с протоколом аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате чего плотность иммобилизации Белка А составила 2000 RU на проточную ячейку. Эксперименты SPR проводили при 37 °С с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween® 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST при pH 7,4 и захватывали через активные проточные ячейки биосенсора при 5 мкл/мин в течение 60 секунд. Серии концентраций 50-5 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) готовили в рабочих буферах при pH 7,4 и 6,0, и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инъекции 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скоростей k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фона при 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1, используя программное обеспечение Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D , рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} для каждого антитела против VISTA.

Максимальную реакцию (или величину) связывания с VISTA человека определяли как реакцию «связывания» в контрольной точке с вычитанием фоновых сигналов по завершении инъекции 50 нМ VISTA для каждого антитела и представляли в единицах ответа (RU). Максимальная реакция связывания (RU) VISTA человека с каждым антителом нанесена на фигуре 7D. Нанесена средняя реакция связывания (два-четыре повторных антител) и планки погрешностей представляют стандартное отклонение. Результаты показывают, что отобранные клоны потомства '029 связываются с hVISTA при pH 6,0, но не при pH 7,4 (пустые кружки, представляющие связывание при pH 7,4, все расположены в нижней части графика, за исключением исходного клона '029).

Константы скорости k_{off} при pH 6,0 для '029 и его потомства определяли с помощью SPR с использованием способа, описанного выше, и представляли на фигуре 7Е. Пунктирная линия на фигуре представляет константу скорости k_{off} для '029, и клоны слева от пунктирной линии имеют более медленную скорость k_{off} при pH 6,0 по сравнению со скоростью k_{off} исходного антитела '029, тогда как клоны на правой стороне имеют более быструю скорость k_{off} при pH 6,0 по сравнению со скоростью k_{off} исходного антитела '029.

На фигуре 7F показаны репрезентативные сенсограммы SPR связывания hVISTA с антителами '029, '761 и '767 при нейтральном и кислом pH. Построены сенсограммы при 50 нМ и 5 нМ huVISTA с вычитанием фоновых сигналов. При нейтральном pH сигнал связывания VISTA <10 RU наблюдался для '761 и '767, таким образом, для адекватного измерения и сравнения k_{off} и K_D для '761 и '767 с '029, требовался анализ кинетики методом SPR с использованием микромолярных концентраций VISTA при физиологическом pH.

Для этого анализа '029, '761 и '767 переформатировали в изотип hIgG1f и экспрессировали в стандартном формате hIgG1f и в афукозилированном формате hIgG1f для сравнения с hIgG1.3f Fc. Анализ кинетики методом SPR проводили для измерения показателей аффинности связывания k_{off} и K_D для VISTA Abs при кислом и физиологическом pH с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5, и иммобилизовали на проточные ячейки биосенсора CM5, следуя протоколу аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате чего плотность иммобилизации Белка А составляла 2000 RU на проточную ячейку. Эксперименты SPR проводили при 37 °C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST, pH 7,4, и захватывали через активные проточные ячейки биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Серии концентраций 1600-0,78 нМ (pH 7,4) и 100-0,78 нМ (pH 6,0) одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) готовили в рабочем буфере и инжескировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инъекции 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скорости k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограммы после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фонового сигнала при 0 нМ, и подгоняли к

модели связывания 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D , рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} для каждого антитела VISTA. Отношения k_{off} и K_D при pH 7,4/pH 6,0 рассчитывали для сравнения скорости диссоциации и улучшения аффинности при кислом pH относительно физиологического pH. Хотя константы скорости связывания при нейтральном pH ранее не могли быть определены для '761 и '767 с использованием 50 нМ hVISTA (фигуры 7D и 7F), увеличение диапазона концентраций VISTA при нейтральном pH до 1,6 мкМ привело к в результате к реакциям связывания (> 10 RU) для этих клонов, которые соответствуют модели связывания 1:1. В таблице 6 показаны кинетические данные для этих антител против VISTA, селективных в отношении кислой среды. Исходное антитело '029 демонстрирует эквивалентную k_{off} при обоих значениях pH, тогда как '761 и '767 демонстрируют более чем 10-кратную селективность в отношении pH 6 по сравнению с pH 7,4 по k_{off} и более чем 2000-кратную селективность в отношении pH 6 по сравнению с pH 7,4 по K_D . Константы скорости связывания VISTA человека сохраняются по вариантам hIgG1.3f, hIgG1f и афукозилированного изотипа hIgG1f.

Таблица 6: Характеристики связывания антител против VISTA, определенные методом SPR

Антитело	Изотип	pH 7.4			pH 6.0			kd отношение (7.4/6)	KD отношение (7.4/6)
		ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)		
P1-061029	hIgG1.3f	1.6E+05	6.8E-03	4.2E-08	1.1E+06	7.9E-03	7.2E-09	0.9	5.8
	hIgG1f	1.7E+05	7.4E-03	4.2E-08	1.1E+06	8.0E-03	7.1E-09	0.9	5.9
	hIgG1f афукозилированное	1.7E+05	7.2E-03	4.1E-08	1.1E+06	7.8E-03	6.9E-09	0.9	5.9
P1-068761	hIgG1.3f	3.8E+03	4.2E-02	1.1E-05	3.7E+05	1.6E-03	4.3E-09	26.3	2558.1
	hIgG1f	1.2E+03	4.2E-02	3.5E-05	3.6E+05	1.5E-03	4.2E-09	28.0	8333.3
	hIgG1f афукозилированное	5.1E+03	4.2E-02	8.2E-06	3.7E+05	1.5E-03	4.1E-09	28.0	2000.0
P1-	hIgG1.3f	1.9E+03	3.6E-	1.9E-	3.3E+05	2.6E-	7.8E-	13.8	2435.9

Антитело	Изотип	pH 7.4			pH 6.0			kd отношение (7.4/6)	KD отношение (7.4/6)
		ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)		
068767			02	05		03	09		
	hIgG1f	1.5E+03	3.2E-02	2.2E-05	3.2E+05	2.6E-03	8.0E-09	12.3	2750.0
	hIgG1f афукозили- рованное	1.3E+03	3.3E-02	2.4E-05	3.3E+05	2.6E-03	7.9E-09	12.7	3038.0
α -VISTA чувствит. к кислому pH	hIgG1.3f	2.2E+05	7.8E-04	3.6E-09	2.8E+06	9.0E-02	3.2E-08	0.01	0.1

Кинетику связывания VISTA человека с P1-061029 (“ ‘029”), P1-068761 (“ ‘761”) и P1-068767 (“ ‘767”) (как антитела IgG1.3) измеряли при значениях pH между pH 7,4 и pH 6,0, т.е. при pH 6,9 и pH 6,45 с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5, и иммобилизовали на проточных ячейках биосенсора CM5, следуя протоколу аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате чего плотность иммобилизации Белка А составила 2000 RU на проточную ячейку. Анализ проводили при 37 °С с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при pH 7,4, 6,9, 6,45 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST, pH 7,4, и захватывали через активные проточные ячейки биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Готовили серии концентраций 100-0,78 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) при pH 7,4, 6,9, 6,45 и 6,0 рабочих буферов и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инъекции 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скорости k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фона при 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D , рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} для каждого антитела против VISTA. Отношения k_{off} и K_D при

каждом рН относительно рН 6,0 рассчитывали для оценки того, как изменяются k_{off} и K_D VISTA при сдвиге рН буфера в сторону физиологического рН, и показаны в таблице 7. Исходное антитело '029 показало однородное значение k_{off} при каждом тестируемом рН, тогда как потомство '761 и '767 показало по меньшей мере в 10 раз более быструю скорость k_{off} VISTA и в 100 раз более слабую K_D VISTA при рН 6,9 по сравнению с рН 6,0. При сдвиге рН буфера от кислого до физиологического, показатели k_{off} и K_D VISTA оба снизились для '761 и '767. Данные при физиологическом рН для '761 и '767 для сравнения взяты из таблицы 7 и отмечены звездочкой (*).

Таблица 7: Кинетические характеристики связывания антител '029, '761 и '767 при различных значениях рН

Антитело	рН	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	KD (М)	отношение k_{off} рН 6,0	отношение KD рН 6,0
P1-061029 (parent)	6.0	2.9E+06	5.7E-03	2.0E-09	1.0	1.0
	6.45	7.4E+05	4.0E-03	5.3E-09	0.7	2.7
	6.9	4.1E+05	5.7E-03	1.4E-08	1.0	7.1
	7.4	2.5E+05	6.4E-03	2.6E-08	1.1	13.2
P1-068761	6.0	6.0E+05	6.6E-04	1.1E-09	1.0	1.0
	6.45	1.1E+05	2.1E-03	2.0E-08	3.2	18.4
	6.9	4.8E+04	8.9E-03	1.9E-07	13.4	170
	7.4 *	3.8E+03	4.2E-02	1.1E-05	~ 63.6	~10000
P1-068767	6.0	5.6E+05	1.9E-03	3.4E-09	1.0	1.0
	6.45	1.3E+05	4.8E-03	3.8E-08	2.5	11.0
	6.9	7.4E+04	2.9E-02	4.0E-07	15.3	115.1
	7.4 *	1.9E+03	3.6E-02	1.9E-05	~ 19.0	~5000

Данные в таблице 7 показывают, что аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при рН 6,45 по меньшей мере в 10 раз ниже, чем при рН 6,0; аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при рН 6,9 по меньшей мере в 100 раз ниже, чем при рН 6,0; и аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при рН 7,4 по меньшей мере в 1000 раз ниже, чем при рН 6,0.

Библиотека '015 также продемонстрировала небольшое преимущество в отношении рН 6-селективного связывания с VISTA. В таблице 8 показаны различия в аминокислотах клонов потомства по сравнению с CDR-областями VH '015. Связывание нескольких препаратов каждого из клонов потомства '015 и исходного '015 (все как

антитела IgG1.3) с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4 измеряли с помощью SPR с использованием идентичного способа, описанного для анализа '029 выше, и показано в таблице 8.

Таблица 8: Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH антител (отделены подчеркиванием), полученных из исходного антитела '015

Название	CDR1 (пол. 26-35)	CDR2 (пол. 50-66)	CDR3 (пол. 99-110)	SEQ ID NO
P1-061015	GFTFSS SYAMH _IIW YDGS NKYY ADSVKG_DSGFY SSYY FDY			95
P1-068736	-----E-----_D-----D-----_-----D-----D			107
P1-068738	-----E--H-_---D----H-----_-----ED-----			131
P1-068740	-----D-----_-----D-D-----_-----D-----D			115
P1-068742	-----D-----_-----D-D-----_-----ED-----			119
P1-068744	-----E-----_H-----E-----_-----E-----E			103
P1-068746	-----_-----HH-----_-----D-----			123
P1-068748	-----HH---_-----DD-----_-----D-----			99
P1-068750	-----D-D--_E--D-----_EE-----			127
P1-068752	-----_E-----D-----_-----D-----E			111
P1-068754	-----D-D--_E--D-----_-----H-D-----			135

В таблицах 9 и 10 показана в обобщенном виде кинетика связывания '029 и '015 и их клонов потомков с huVISTA при pH 6,0 и 7,4, определенная с помощью SPR.

Таблица 9: Сводная кинетика huVISTA и последовательности CDR VH клона '029 и их потомства

ID	Средн. 7.4, ka (1/Мс)	Средн. 7.4, kd (1/с)	Средн. 7.4, KD (M)	Средн. 6.0, ka (1/Мс)	Средн. 6.0, kd (1/с)	Средн. 6.0, KD (M)	VH CDR 1 (поз 26-35)	VH CDR 2 (поз 50-66)	VH CDR 3 (поз 99-110)	SEQ ID NO
P1-069077	6.0E+04	1.9E-03	3.1E-08	6.3E+05	1.2E-04	1.9E-10E.E...DE.....	47
P1-069065	5.9E+04	2.3E-03	3.9E-08	5.7E+05	2.2E-04	3.8E-10E.E...DD.....	23
P1-069075	1.3E+05	2.3E-03	1.8E-08	1.3E+06	2.9E-04	2.2E-10E.....D..E.....H....E..	43
P1-069071	4.3E+04	4.0E-03	9.3E-08	7.0E+05	5.1E-04	7.3E-10E.E...D.....E.....	35
P1-069061	Слабое связывание, быстрая скорость kd			4.3E+05	1.1E-03	2.5E-09E.....E.....E.D	15
P1-069069	9.0E+04	7.5E-03	8.4E-08	1.4E+06	1.2E-03	8.6E-10EE.....D..	31
P1-068761	Слабое связывание, быстрая скорость kd			3.8E+05	1.4E-03	3.8E-09E.E...EE.....H....E..	51
P1-069059	Слабое связывание, быстрая скорость kd			3.4E+05	1.6E-03	4.8E-09E.....DH.....E.D	11
P1-068767	Слабое связывание, быстрая скорость kd			3.4E+05	2.6E-03	7.6E-09E.....	..D...E.....E.D	55
P1-068773	Слабое связывание, быстрая скорость kd			3.0E+05	2.9E-03	9.4E-09E.....	..D...D.....E.D	59
P1-069063	1.2E+05	2.7E-02	2.3E-07	1.9E+06	4.4E-03	2.4E-09E.....E.....D.E	19
P1-069067	1.0E+05	2.7E-02	2.9E-07	1.7E+06	4.5E-03	2.7E-09EE.....D.E	27
P1-069073	Слабое связывание, быстрая скорость kd			6.1E+05	5.8E-03	9.4E-09E.E...E.....E..	39
P1-061029	2.9E+05	5.6E-03	1.9E-08	1.6E+06	5.8E-03	3.6E-09	GFTLDDYAMH (SEQ ID NO: 518)	GINWNSANIGYADSVKG (SEQ ID NO: 519)	VPGYSGGWIDAFDV (SEQ ID NO: 520)	67
P1-068765	Нет связывания			3.7E+05	7.0E-03	1.9E-08	...DE.....EE.....E.D	63
P1-068757	Нет связывания			8.9E+05	1.7E-02	1.9E-08E.E...EE.....E.D	71

ID	Средн. 7.4, ка (1/Мс)	Средн. 7.4, kd (1/с)	Средн. 7.4, KD (M)	Средн. 6.0, ка (1/Мс)	Средн. 6.0, kd (1/с)	Средн. 6.0, KD (M)	VH CDR 1 (поз 26-35)	VH CDR 2 (поз 50-66)	VH CDR 3 (поз 99-110)	SEQ ID NO
P1-068771	Нет связывания			7.6E+05	1.8E-02	2.5E-08E.E...HE.....E.D	75
P1-068769	Нет связывания			8.1E+05	4.0E-02	5.5E-08E.E...DH.....E.D	83
P1-068775	Нет связывания			1.8E+06	4.7E-02	2.3E-08E.E...	..D...EE.....H....E.D	79
P1-068759	Нет связывания			1.3E+06	8.0E-02	6.0E-08E.E...	..D...E.....E.D	87

Таблица 10: Сводная кинетика huVISTA и последовательности CDR VH клона '015 и их потомства

Clone	Средн. 7.4, ка (1/Мс)	Средн. 7.4, kd (1/с)	Средн. 7.4, KD (M)	Средн. 6.0, ка (1/Мс)	Средн. 6.0, kd (1/с)	Средн. 6.0, KD (M)	Последовательности HCDR			SEQ ID NO
							(поз 26-35)	(поз 50-66)	(поз 99-110)	
P1-061015	2.3E+05	2.0E-03	8.8E-09	1.8E+06	9.5E-04	5.4E-10	GFTFSSYAMH	IIWYDGSNKYYADSVKG	DSGFYSSYYFDY	95
P1-068748	Нет связывания			1.4E+06	1.5E-03	1.0E-09NH...DD.....D.....	99
P1-068744				1.3E+06	1.8E-03	1.3E-09E....	H.....E.....E....E	103
P1-068736				8.4E+06	9.5E-03	1.1E-09E....	.D.....D.....D....D	107
P1-068752				6.1E+06	3.4E-02	5.6E-09E.....	E.....D.....D....E	111
P1-068740				Too fast	4.7E-02	NDD....D.D.....D....D	115
P1-068742				Too fast	>1E-02	NDD....D.D.....ED....	119
P1-068746				Too fast	>1E-02	NDE.....HH.....D.....	123
P1-068750				Слабое		D.D..	E..D.....EE.....	127

Таким образом, было идентифицировано несколько клонов потомства '029, которые либо сохраняли, либо улучшали k_{off} в отношении VISTA-ECD при pH 6,0 по сравнению с исходным '029, а также продемонстрировали более слабую скорость диссоциации k_{off} или потерю связывания с VISTA при физиологическом pH. Потомство '015 проявило селективное в отношении кислого pH связывание с VISTA-ECD, при этом не было обнаружено связывания с VISTA при нейтральном pH, но все проанализированные потомство '015 показало более быструю скорость k_{off} при pH 6,0 по сравнению с родителем '015.

Пример 10: Селективное по отношению к кислому pH потомство '029 демонстрирует зависимое от кислого pH клеточное связывание и эффекторную функцию, при этом сохраняя блокирующую VISTA активность

Измеряли pH-зависимое связывание клонов '761 и '767 с клетками Raji, сконструированными для эктопической экспрессии полноразмерного VISTA человека (SEQ ID NO: 1 с заменой D187E). Для этого эксперимента '761 и '767 форматировали в антитела IgG1.3, и связывание измеряли с помощью вторичного антитела против человеческого IgG (номер в каталоге Jackson Immunoresearch 109-065-098). Результаты, представленные на фигурах 8A-8B, показывают, что клоны '761 (фигура 8A) и '767 (фигура 8B) слабо связываются при pH 7,2 и 8,1, но лучше при кислом pH, особенно при pH 6,0, 6,1, 6,2 и 6,4. Значения MFI связывания отложены по оси y, и концентрации первичных антител отложены по оси x в логарифмической шкале. Также, показаны нелинейные регрессии.

На фигуре 8C показаны данные из эксперимента, описанного на фигурах 8A-8B, измеряющие связывание P1-068767 (кружки) и изотипически сходного неспецифического контрольного антитела (треугольники) с клетками Raji, экспрессирующими VISTA человека, при 3125 нг/мл при различных значениях pH. Значение «pH50», то есть pH, при котором теряется 50% связывания P1-068767, составляет приблизительно 6,6. Значения MFI связывания отложены по оси y, и значения pH буфера отложены по оси x. Также, показаны нелинейные регрессии.

На фигуре 8D показана средняя интенсивность флуоресценции (MFI) изотипически сходного неспецифического контрольного антитела (закрашенные и незакрашенные кружки для pH 7,0 и 6,0, соответственно), анти-VISTA mAb 2 («контроль», см. фигуру 6C, закрашенные и незакрашенные квадраты при pH 7,0 и 6,0, соответственно), P1-068761 (закрашенные и незакрашенные треугольники для pH 7,0 и 6,0, соответственно) и P1-068767 (закрашенные и незакрашенные перевернутые

треугольники для рН 7,0 и 6,0, соответственно), связывающиеся с моноцитами человека. Связывание обнаруживали, как описано на фигурах 8А-В. Не селективное в отношении рН контрольное антитело VISTA (mAb 2) связывалось с моноцитами при обоих значениях рН. Оба сконструированных антитела, селективных в отношении кислого рН, хорошо связывались с моноцитами при рН 6,0, но не связывались лучше, чем неспецифический изотипически сходный контроль при рН 7,0. Таким образом, клоны '761 и '767 имеют слабое связывание или не связываются с VISTA при нейтральном рН, а вместо этого связываются с VISTA на клетках селективно при кислом рН.

На фиг. 8Е показано сопоставимое блокирование связывания рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4⁺ Т-клетками человека при рН 6,0 антителами '029 (квадраты), '761 (треугольники) и '767 (перевернутые треугольники), при этом не-VISTA-специфическое контрольное антитело (кружки) не блокировало связывание с VISTA. Этот анализ блокирования проводили, как описано в примере 4. Эти данные показали, что сконструированные селективные в отношении кислого рН антитела против VISTA способны блокировать рецептор-лигандное связывание VISTA при кислом рН.

Специфический лизис клеток-мишеней NK-клетками (те же клетки Raji, экспрессирующие VISTA человека, описанные на фигурах 8А-В) посредством антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом рН измеряли для антител P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, не-VISTA-специфического антитела и не-VISTA-специфического отрицательного контрольного антитела, все экспрессированные как афукозилированные антитела IgG1. NK-клетки обогащали из PBMC путем отрицательной селекции с использованием шариков (номер по каталогу StemCell Technologies 19055) и культивировали в течение ночи в среде Myelocult™ (номер по каталогу StemCell Technologies 05150), дополненной 1 мкл гидрокортизона (номер по каталогу StemCell Technologies 07904) и 500 Ед/мл рекомбинантного человеческого IL-2 (номер по каталогу Peprotech 200-02). В день проведения анализа клетки Raji, эктопически экспрессирующие VISTA человека (описанные на фигурах 8А-В), метили кальцеином AM (номер по каталогу Life Technologies C3100MP) и совместно культивировали с культивированными NK-клетками в соотношении 10:1 NK:клетки-мишени и с антителами P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, не-VISTA-специфическим антителом и не-VISTA-специфическим отрицательным контрольным антителом в течение 2 часов при

физиологическом pH. Специфический лизис интерполировали из сигнала флуоресценции супернатанта (планшет-ридер EnVision™). Сигнал спонтанного лизиса, полученный от сокультуры без антител, и сигнал максимального лизиса определяли по лизису клеток-мишеней буфером для лизиса Delfia® (номер по каталогу PerkinElmer 4005-0010). Антитело-специфический лизис рассчитывали как процент от наблюдаемого лизиса, деленный на (сигнал максимального лизиса минус сигнал спонтанного лизиса).

Результаты, представленные на фигуре 8F, показывают сниженную эффективность P1-068761.IgG1f и P1-068767.IgG1f по сравнению с P1-061029 и положительным контролем в отношении опосредования антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом pH.

Пример 11: Суно РК антител против VISTA

Яванским макакам, не имеющим антител человека, внутривенно вводили однократную дозу 5 мг/кг массы тела антитела против VISTA, которое сопоставимо связывается при кислом и нейтральном pH («контроль»; mAb2), антитела против VISTA с ослабленным связыванием при кислом pH («чувствительное к кислому pH», mAb3) или антитела '767, селективного в отношении кислого pH, чтобы определить суно РК этих антител.

Результаты исследования кинетики связывания на основе SPR антител, используемых в этом примере, представлены в таблице 11, и их определяли следующим образом. Перекрестную реактивность Суно VISTA для селективных в отношении кислого pH и контрольных анти-VISTA антител оценивали при кислом и нейтральном pH. Измерения аффинности связывания для VISTA Abs проводили с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 mM ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизовали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с протоколом аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате получая плотность иммобилизации Белка A, равную 2000 RU на проточную ячейку. Анализ проводили при 37 °C с использованием рабочего буфера PBST (137 mM хлорида натрия, 2,7 mM хлорида калия, 10 mM фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела (форматированные в антитела IgG1.3) разбавляли до 25 нМ в PBST, pH 7,4, и захватывали активными проточными ячейками биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Серии концентраций 1600 - 0,78 нМ (pH 7,4) и 100 - 0,78 нМ (pH 6,0) одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) и суно VISTA-ECD

(AFKVATLYSL YVCPEGQNVLT LTRVFGPVD KGHDTVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHN GGHQAANTSH DLAQRHGLS ASDHHGNFSI TMRNLTLDS GLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENITANHHHHHH; (SEQ ID NO: 326) готовили в рабочем буфере и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инъекции 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скорости k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фонового сигнала 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности K_D рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} для каждого антитела против VISTA. Отношения k_{off} и K_D при pH 7,4/pH 6,0 рассчитаны для сравнения различий в константе скорости диссоциации и аффинности при кислом pH по сравнению с нейтральным pH, и показаны в таблице 11. Все протестированные анти-VISTA антитела показали сопоставимые (в 2-кратных пределах) кинетические параметры связывания с VISTA человека и яванского макака при обоих протестированных значениях pH, подтверждая перекрестную реактивность с супо VISTA. Оба анти-VISTA контрольных антитела продемонстрировали улучшенные значения k_d и более сильные K_D при физиологическом pH по сравнению с кислым pH, и чувствительный к кислому pH контрольный образец показал более быструю скорость диссоциации k_d в отношении VISTA при кислом pH по сравнению с контрольным антителом.

Таблица 11: Кинетика связывания SPR антител против VISTA с супо VISTA

Антитело	VISTA	pH 7.4			pH 6.0			kd отношение (7.4/6)	KD отношение (7.4/6)
		ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)		
P1-061029	человек	1.2E+05	7.5E-03	6.2E-08	9.8E+05	6.6E-03	6.8E-09	1.1	9.1
	яванский макак	1.4E+05	6.7E-03	4.7E-08	6.2E+05	6.2E-03	1.0E-08	1.1	4.7
P1-068761	человек	4.3E+03	3.7E-02	8.7E-06	3.5E+05	1.4E-03	4.1E-09	26.4	2122.0
	яванский макак	6.5E+03	3.6E-02	5.5E-06	2.1E+05	1.7E-03	7.9E-09	21.2	696.2
P1-068767	человек	1.6E+03	3.5E-02	2.3E-05	3.2E+05	2.4E-03	7.5E-09	14.6	3066.7
	яванский макак	1.3E+03	3.4E-02	2.6E-05	1.9E+05	2.5E-03	1.3E-08	13.6	2000.0
α -VISTA контроль (mAb 3)	человек	4.4E+05	1.3E-03	3.0E-09	9.6E+05	6.0E-03	6.2E-09	0.2	0.5
	яванский макак	4.9E+05	1.7E-03	3.4E-09	5.5E+05	7.1E-03	1.3E-08	0.2	0.3
α -VISTA	человек	1.8E+05	7.8E-04	4.3E-09	1.8E+06	5.0E-02	2.8E-08	0.02	0.2

чувствит. к кислоте рН (mAb 2)	яванский макак	1.9E+05	6.8E-04	3.5E-09	1.2E+06	5.2E-02	4.4E-08	0.01	0.08
--------------------------------------	-------------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	------	------

Яванским макакам, не имеющим антител человека, внутривенно инъецировали однократную дозу 5 мг/кг массы тела VISTA mAb2 («контроль»), VISTA mAb3 («чувствительное к кислоте рН») или P1-068767.IgG1.3. На фигуре 9 показана концентрация каждого антитела в сыворотке после инъекции. Среднее время удержания для P1-068767.IgG1.3 и контрольного анти-VISTA антитела составило 717 и 22 часа, соответственно, что указывает на то, что селективность в отношении кислого рН значительно уменьшала TMDD (мишень-опосредованное распределение лекарственного средства) антитела против VISTA. Хотя контрольное антитело (mAb 2) и чувствительное к кислоте рН антитело (mAb 3) связываются с VISTA сопоставимо при физиологическом рН, чувствительное к кислоте рН антитело имело более низкое среднее время удержания, составляющее 7,6 часов, что свидетельствует о важности связывания при кислом рН с антителом против VISTA, рециркулирующим, как описано в примерах 6 и 7. Результаты показали, что селективные в отношении кислого рН антитела имеют превосходящую РК и, таким образом, будут легче достигать захвата мишени в опухолях или других микро средах.

Пример 12: рН-селективное потомство '029 не связывается неспецифически с белками с высоким значением изоэлектрической точки (pI)

Специфичность связывания клонов '029, '761 и '767 с VISTA и с другими белками с высоким значением pI оценивали с помощью SPR при нейтральном и кислом рН с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, рН 4,5, и иммобилизован на проточных ячейках биосенсора CM3 в соответствии с протоколом аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате получая плотность иммобилизации Белка А, равную 800 RU на проточную ячейку. Эксперименты SPR проводили при 25 °С с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при рН 7,4 и 6,0. Антитела (отформатированные в антитела IgG1.3) разбавляли до 50 нМ в PBST, рН 7,4, и захватывали активными проточными ячейками биосенсора при 5 мкл/мин в течение 60 секунд. Серии концентраций 100-10 нМ одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325), авидина (номер по каталогу ThermoFisher Scientific каталогу 21128), цитохрома С (номер по каталогу Sigma C2867),

BSA (номер по каталогу Calbiochem 126593) и моновалентного контрольного антигена («Ag») готовили в рабочих буферах с pH 7,4 и 6,0, и инжестировали поверх захваченных антител при 50 мкл/мин для оценки специфичности связывания. Две 15-секундные инъекции 10 mM глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Сенсограммы после вычитания сигнала эталонной проточной ячейки и фона при 0 нМ анализировали с использованием программного обеспечения Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Результаты представлены в таблице 12.

Таблица 12: Связывание клонов VISTA с белками, имеющими высокое значение pI

Образец	Изоэл. точка (pI)	'029		'761		'767		Анти-Ag		PBS (нет Ab)	
		pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4
huVISTA-His	6.9										
Авидин	10										
Цитохром С	10.7										
BSA	4.7										
Ag-His	6.5										

В таблице 12 специфическое связывание, определяемое как реакции связывания SPR >10 RU по завершении инъекции образца, указано закрашенными серыми ячейками. «Анти-Ag» представляет собой контрольное антитело, связывающееся с VISTA. Клон '029 был специфическим в отношении VISTA при кислом и нейтральном pH. Клоны потомства '761 и '767 антитела '029 были специфическими в отношении VISTA при кислом pH, при этом контрольное антитело также сохраняло антигенную специфичность. Неспецифическое связывание («NSB») pI контрольных белков с эталонной поверхностью Белка А в этом анализе не наблюдалось.

Таким образом, заряженные аминокислоты, введенные в CDR-области VH '761 и '767, не вызывают электростатического связывания этих антител с другими белками с высоким значением pI, такими как авидин и цитохром С, или белками с низким значением pI, такими как BSA.

Пример 13: Ослабление VISTA-опосредованного ингибирования Т-клеточной активации антителами '761 и '767

В этом примере описан анализ, который может быть проведен для определения способности антител '761 и '767 блокировать ингибирование hVISTA активации Т-клеток Jurkat.

Использовали тот же анализ, который описан в примере 5. Вкратце, клетки Jurkat (линия Т-клеток человека), экспрессирующие люциферазный репортер NFκB, совместно культивировали при различных значениях pH с клетками 293Т, экспрессирующими VISTA человека, и одноцепочечным варибельным фрагментом агонистического антитела ОКТЗ против Т-клеточного рецептора человека. К совместно культивируемым клеткам добавляли анти-VISTA антитела '761 и '767 или изотипически сходное не-VISTA-специфическое контрольное антитело. Активация Jurkat показана в виде люциферазных единиц и кратного увеличения сигнала люциферазы при обработке анти-VISTA антителами по сравнению с контролем.

Пример 14: Мутационный анализ идентифицировал ключевые остатки, наделяющие pH-зависимыми свойствами связывания с антителами против VISTA

Антитела P1-068761.IgG1.3 и P1-068767.IgG1.3 содержат 5-6 мутаций из P1-061029 (таблица 7). Проводили мутационный анализ для идентификации ключевых остатков, важных для надления антител против VISTA pH-зависимыми свойствами. Соответственно, синтезировали панель вариантов N-1 (реверсия 1 аминокислоты в P1-061029) и N-2 (реверсия 2 аминокислоты в P1-061029) P1-068761 и P1-068767, экспрессировали как IgG1.3, и анализировали на их связывание с huVISTA при pH 6, pH 6,7 и pH 7,4.

Кинетику связывания измеряли с помощью прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5, и иммобилизовали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с протоколом аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате плотность иммобилизации Белка А составила 2000 RU на проточную ячейку. Анализ проводили при 37 °C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при pH 7,4, 6,7 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST при pH 7,4 и захватывали через активные проточные ячейки биосенсора при 5 мкл/мин в течение 40 секунд. Серии концентраций 100-10 нМ одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) готовили в рабочих буферах при pH 7,4, 6,7 и 6,0, и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундных инжестии 10 мМ глицина при pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка А между циклами анализа. Константы скоростей k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания сигнала

эталонной проточной ячейки и фона при 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0.

Константу аффинности, K_D , рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} для каждого антитела против VISTA. % Rmax рассчитывали для сравнения того, как pH влияет на способность антитела связываться с VISTA, и представляет измеренную максимальную реакцию связывания с VISTA по сравнению с ожидаемой максимальной реакцией связывания с VISTA. %Rmax определяется как отношение реакции «связывания» в контрольной точке за вычетом эталона по завершении инъекции 100 нМ VISTA для каждого антитела (Rmax) относительно ожидаемой реакции связывания с VISTA (Rexp). Rexp рассчитывается как $R_{exp} = [(молекулярная\ масса\ VISTA-ECD / молекулярная\ масса\ mAb) \times (реакция\ «захвата»\ mAb\ в\ контрольной\ точке\ (RU))] \times 2$ участка связывания на mAb.

Результаты SPR, полученные для реверсивных вариантов P1-068761, показаны на фигуре 10А, которые ранжированы по скорости диссоциации k_{off} при pH 6,0 от самой медленной до самой быстрой. В таблице антитела, которые проявляют слабую реакцию связывания или отсутствие реакции связывания (<10 RU) с 100 нМ hVISTA, классифицировали как несвязывающиеся (NB). Результаты указывают на то, что Е в положениях 32 (т.е. аминокислотный остаток 7 в CDR1 VH из '761) и 100f (аминокислотный остаток 12 в CDR3 VH из '761) оба требуются для поддержания селективности в отношении кислого pH, поскольку эти реверсии в последовательность исходного P1-061029 обеспечивают возможность значительного связывания с hVISTA при физиологическом pH (%Rmax > 10). Дальнейший анализ выявил, что варианты с реверсией E55A (аминокислотный остаток 6 в CDR2 VH из '761) сохраняли селективность в отношении кислого pH и продемонстрировали сравнимую кинетику связывания в пределах 2-кратного значения для P1-068761. Напротив, в то время как варианты с реверсиями H100G, E56N и E30D (аминокислотные остатки 12 из CDR3 VH, 7 из CDR2 VH и 4 из CDR1 VH из '761, соответственно) сохраняли селективность в отношении кислого pH, эти mAb также продемонстрировали примерно в 3 раза более быструю скорость диссоциации k_{off} при кислых значениях pH по сравнению с P1-068761, что приближает скорости диссоциации этих мутантов при кислом pH к исходному P1-061029. Таким образом, добавление мутаций G100H, N56E и/или D30E к исходному клону P1-061029 способствовало улучшениям аффинности VISTA при кислом pH, наблюдаемым в клоне P1-068761, селективном в отношении кислой среды.

Результаты SPR, полученные для реверсивных вариантов P1-068767, показаны на фигуре 10B, которые ранжированы по скорости k_{off} при pH 6.0 от самой медленной к самой быстрой. Результаты показывают, что D в положении 102 (аминокислотный остаток 14 в CDR3 VH из '767) необходим для поддержания селективности в отношении кислого pH, и реверсия D102V обратно к исходную последовательность P1-061029 обеспечила возможность значительного связывания hVISTA при нейтральном pH (%Rmax > 10). Дальнейший анализ показал, что варианты с реверсиями E30D, D52N и E55A (аминокислотные остатки 4 из CDR1 VH, 3 из CDR2 VH и 6 из CDR3 VH из '767, соответственно) сохраняли селективность в отношении кислого pH и продемонстрировали сравнимую кинетику связывания при pH 6,0 в пределах 2-кратного значения для P1-068767. Напротив, варианты с реверсией E100fF (аминокислотный остаток 12 CDR3 VH из '767) сохраняли селективность в отношении кислого pH, хотя и с более чем в 3 раза более быстрой скоростью k_{off} при кислом pH по сравнению с P1-068767. Примечательно, что варианты с реверсией E100fF показали даже более быструю скорость k_{off} при кислом pH по сравнению с исходным mAb P1-061029.

Таким образом, сводные данные по реверсивным мутантам P1-068761 и P1-068767 (селективным к кислому pH) относительно P1-061029 (pH-толерантное) приведены в таблице 13 (HCDR1, HCDR2 и HCDR3 разделены подчеркиванием).

Таблица 13:		Seq Id.
P1-061029	GFTLDDYAMH_GINWNSANIGYADSVKG_VPGYSGGWIDAFDV	67
P1-068761 <u>E</u> . <u>E</u> ..._..... <u>EE</u>_..... <u>H</u> <u>E</u> ..	51
P1-068767 <u>E</u>_... <u>D</u> ... <u>E</u>_..... <u>E</u> . <u>D</u>	55
aa поз.	26-35 50-66 99-110	

Вышеупомянутые последовательности CDR VH для P1-061029, P1-068761 и P1-068767 в таблице 13 относятся к аминокислотам в положениях («aa поз.») 26-35, 50-66 и 99-110 из SEQ ID NO: 67, 51, 55, соответственно. Ключевые мутации, необходимые для селективности к кислому pH, выделены жирным шрифтом, и мутации, оказывающие более чем 3-кратное влияние на k_d при pH 6.0 по сравнению с P1-068761 и P1-068767, подчеркнуты.

Пример 15: Картирование эпитопов антител к VISTA

Эпитопы '015, '029, '761 и '767 против hVISTA, форматированные в антитела IgG1.3, определяли двумя различными способами: конкуренция BLI (биослойный интерферон) и дрожжевой поверхностный дисплей.

Конкурентные анализы методом эпитоп-специфической сортировки BLI проводили для оценки того, сохраняют ли селективные в отношении кислого pH антитела VISTA P1-068761 и P1-068767 сходные или перекрывающиеся эпитопы на VISTA по сравнению с исходным P1-061029, P1-061015 и соответствующими контрольными антителами 1, 2 и 3 VISTA. Анализы сортировки в сэндвич-формате и тандемном формате выполняли на приборе OctetRed384 BLI (PALL/ForteBio). Все стадии анализа выполняли при 30 °C и скорости встряхивания 1000 об/мин, и используемый буфер представлял собой кислый (pH 6,0) или нейтральный (pH 7,4) PBST (137 mM хлорида натрия, 2,7 mM хлорида калия, 10 mM фосфатного буфера, 0,05% Твин 20). Для сэндвич-формата сенсоры против IgG-Fc человека (АНС, PALL/ForteBio) сначала захватывали панель антител VISTA при pH 7,4, затем сенсоры захвата антител человека блокировали общим IgG человека (Jackson # 009-000-002). Затем VISTA-ECD человека захватывали при pH 6,0, и, наконец, оценивали конкуренцию для всех возможных комбинаций антител при pH 6,0. В анализе в тандемном формате покрытые стрептавидином биосенсоры (SAX, PALL/ForteBio) сначала захватывали биотинилированный hVISTA-ECD при pH 7,4, затем сенсоры захватывали полную панель антител VISTA при pH 6,0, обеспечивая полное насыщение связывания каждого антитела на VISTA перед оценкой конкуренции со всеми возможными комбинациями антител при pH 6,0.

Результаты конкурентных анализов эпитоп-специфической сортировки BLI обобщены в матрице конкуренции, фигура 11А. На этой фигуре первое захваченное антитело указано в строке, а его связывающая или блокирующая активность по отношению к (вторым) конкурентным антителам показана в каждом столбце. Матрица конкуренции была идентична для обоих форматов анализа. Для сэндвич-анализа связывание (светло-серый) антитела-конкурента определяли по сигналу в диапазоне от 0,4 до 1,2 нм, а заблокированные антитела (черный) продемонстрировали сигнал отсутствия связывания <0,1 нм. Для тандемного анализа связывание конкурентного антитела определяли по сигналу в диапазоне от 0,3 до 0,8 нм, а заблокированные антитела продемонстрировали сигнал отсутствия связывания <0,2 нм. Хотя «VISTA mAb 3» демонстрировало быструю диссоциацию при кислом pH от hVISTA-ECD по данным SPR при 37 °C (фигура 6С), оно не диссоциировало быстро ни в одном из

форматов анализа BLI (проводимого при 30 °C). Эти конкурентные анализы показали, что P1-061015, P1-061029, селективные в отношении кислого рН антитела P1-068761 и P1-068767, а также антитела 2 и 3 VISTA конкурируют друг с другом за аналогичные или перекрывающиеся эпитопы на VISTA. Однако антитело 1 VISTA связывается с отдельным и отличным эпитопом. Таким образом, мутации заряженных аминокислот, введенные в CDR-области VH P1-061029 для создания кислотно-селективных клонов P1-068761 и P1-068767, не изменили существенно связывающий VISTA эпитоп.

Эпитопы антител '029, '015, '761 и '767 также были картированы с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и NGS в соответствии с методом Chao *et al.* (2004) *J. Mol. Biol.* 342:539-550, Oliphant *et al.* (2006) *J. Virol.* 80:12149–12159, и Kowalsky *et al.* (2015) *J. Biol. Chem.* 290:26457–26470. Вкратце, библиотеку мутагенеза насыщения одноточечных мутантов VISTA ECD создавали и экспонировали на поверхности дрожжей. Мутанты VISTA, которые утратили связывание с картируемым антителом, но сохранили связывание с неблокирующим антителом (mAb1), были отсортированы и секвенированы. Поскольку они сохраняли связывание с mAb1, эти мутанты, вероятно, были правильно уложены, и утрата связывания с картируемым антителом, вероятно, была связана с потерей энергетически важного контактного остатка. Положения этих мутаций обозначены как энергетически важные остатки в эпитопе антитела и показаны в таблице 14.

Таблица 14: Остатки huVISTA, которые идентифицированы как остатки эпитопа анти-VISTA mAb

mAb	T 35	Y 37	K 38	T 39	Y 41	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	I 119	H 121	H 122	S 124	E 125	R 127
P1-061015		x	x	x		x		x	x	x	x				x	x	x	x			x	x	
P1-061029		x		x	x	x	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x			x	x	x
P1-068761	x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	x		x	x	x			x	x	x
P1-068767		x		x	x	x	x	x	x	x	x					x	x	x	x	x	x	x	x

Таблица 15 включает подробные данные из таблицы 14 и перечисляет аминокислотные остатки hVISTA, которые могут снижать связывание каждого из перечисленных антител, на основе частоты остатков, наблюдаемой в методе дрожжевого поверхностного дисплея/NGS.

Таблица 15: Аминокислотные замены VISTA, которые могут снизить связывание перечисленных антител

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
T35					P, Y, W	
Y37	P, G, A, S, T, K, R, H, N, D, E, Q	P, G, S, N, D, E, Q	Y, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, Q	P, G, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	G, T, V, L, I, M, K, R, N, Q
K38	P, G, A, S, V					
T39	G, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	M, K, R, H, F, Y, W, D, E, Q	G, A, S, M, Y, W, N, D, E, Q	G, A, S, V, L, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	G, Y, D, E	G, A, S, H, Y, W, N, D, E, Q
Y41				A, S, T, I, M		P, I, M, H
R54	L, M, F, Y, E	M, E	P, A, T, V, I, M, F, Y, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, H, F, Y, W, N, D, E, Q	A, T, V, L, I, M, K, F, Y, E, Q	P, A, S, T, V, L, I, M, F, Y, W, D, E, Q
T61			G, L, R, H, F, Y, D, E, Q	V, L, K, R, H, F, Y	G, V, H, Y, D	L, R, H, F, Y, D, E
F62	G, A, S, M, K, R, N, D, E, Q	G, K, R, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, I, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, H, Y, W, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, M, H, Y, W, N, D, E, Q
Q63	G, R, W, D, E	W, D, E	G, A, S, T, V, K, R, H, Y, W, N, D, E	P, G, S, T, L, M, K, R, H, F, Y, W, N, D, E	G, S, T, K, H, Y, N, D, E	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, H, F, Y, W, N, D, E
L65	P, G, A, S, T, K, R, H, W, N, D, E, Q	P, G, S, K, W, D, E, Q	G, T, Y, D, E, Q	P, G, A, S, T, H, Y, W, N, D, E, Q		P, G, S, H, D, E, Q
H66	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	T, V, L, I, Y, D, E, Q	G, S, T, V, L, I, M, K, R, W, N, D, E, Q	T, I, K, W, D	T, V, I, K, W, D, E
L67					G, A	
H68			L, I, M, F, E	L, I, E	G, T, V, L, I, Y, W, D, E, Q	
F97	G, D, E					

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
L115	R, W		A, T, K, N, Q	A, T, K, F, N, Q	A, T, M, K, F, N	A, T, K, F, N, Q
V117	M, K, N, D	M, K, R, W, E	T, M, K, R, W, E	T, L, I, M, K, R, W, E	T, I, M, K, W	T, L, I, M, K, R, W, E
I119	F, P	P, N	P, M, E	P, M, E	M, H	P, M, H, F, N, E
H121						V, E, Q
H122						P, Y, N, D
S124	P, V, L, I, K, F, D, E	L, I, M, H, W, Q	L, I, M, H, W, Q		L, I, M, Q	L, I, M
E125	A, S, T, L, M, K, H, Y, D	A, T, V, I, M, K, H, F, Y, W, N, D	T, V, I, M, H, F, Y, W	G, T, K, H, Y, W, N, D	V, I, H, N	T, V, I, F, Y, W, N
R127			S, V, M, H	P, S, V, M, K, H, N	P, V, M, N	P, S, V, M, H, N

На фигуре 11В и фигуре 11С показано изображение эпитопа, охватывающее все остатки для блокирования антитела к hVISTA, как указано в таблице 14 (фигура 11В), по сравнению с эпитопом неблокирующего антитела к hVISTA (mAb1; фигура 11С). Аминокислотные остатки 66(Н) и 162(А) указаны для обозначения ориентации молекулы. Остатки Н66 и А162 выделены серым цветом, а остатки эпитопа - черным. Примечательно, что все блокирующие анти-VISTA mAb занимают одну и ту же область эпитопа, что согласуется с данными сортировки октетов (показывающими, что они конкурируют друг с другом), с небольшими различиями в остатках среди запрашиваемых антител. Напротив, неблокирующее антитело к hVISTA (mAb1) занимает отдельный участок эпитопа на молекуле hVISTA, и это дополнительно подтверждается данными сортировки октетов, показывающими, что ни одно из блокирующих mAb не конкурировало с mAb1.

Пример 16: Биофизические свойства '761 и '767

Физические и химические свойства P1-068761 и P1-068767 сравнивали со свойствами исходного P1-061029 (все с константной областью IgG1.3) с помощью следующих аналитических и биофизических методов.

Аналитические данные SEC получали с использованием прибора для HPLC Agilent 1260 с использованием колонки Shodex™ KW403-4F (4,6 мм ID X 300 мм) в буфере, содержащем 100 mM фосфата натрия, 150 mM хлорида натрия, pH 7,3 (фильтрация 0,2 мкм) при скорости потока 0,30 мл/мин. Данные собирали с помощью

детектора на диодной матрице Agilent 1260 Infinity, установленного для сбора при 280 нм, и анализировали с помощью программного обеспечения Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara, CA).

Изображения изоэлектрической фокусировки капилляров (icIEF) получали на приборе ProteinSimple iCE3 с автосэмплером Alcott 720NV. Образцы антител смешивали с разделяющей смесью с получением конечных концентраций антитела 0,2 мг/мл, 0,35% метилцеллюлозы, 2,0 М мочевины, 1% об./об. Pharmalyte pI 5-8 и 3% об./об. Pharmalyte pI 8-10,5. Эти образцы анализировали с использованием времени предварительной фокусировки 1 мин при 1500 В и времени фокусировки 10 мин при 3000 В в картридже ProteinSimple cIEF с покрытием FC (продукт # 101701). Данные анализировали с помощью программного обеспечения iCE CFR Software V4.3.1.5352.

Гидродинамический размер антител определяли с помощью динамического рассеяния света (DLS), и термическую стабильность характеризовали с помощью флуоресцентной спектроскопии и статического рассеяния света (SLS) с использованием прибора для определения молекулярных характеристик UNcle (Unchained Labs). Антитела P1-061029, P1-068761 и P1-068767 получали при концентрации 2 мг/мл в 1X PBS буфере, и затем разбавляли 1:1 либо 40 мМ Трис в 1X PBS, либо 40 мМ цитрата в 1X PBS, при различном pH, чтобы получить конечные образцы 1 мг/мл антитела в 20 мМ Трис/1X PBS или 20 мМ цитрат/1X PBS при pH 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 или 9,0. Эти образцы загружали в кюветный картридж UNi и анализировали в течение 1 часа после разведения в составах с различными pH. Данные DLS собирали при 25 °C, используя 4 сбора данных по 5 с каждый. Функции автокорреляции интенсивности подбирали с использованием программного обеспечения для анализа UNcle версии V2.0. Данные по термической денатурации получали путем сканирования образцов от 25 °C до 90 °C со скоростью сканирования 0,5 °C/мин при возбуждении на 266 нм и 473 нм. Данные флуоресценции получали в диапазоне от 250 до 720 нм. Данные флуоресценции и SLS анализировали с использованием программного обеспечения для анализа UNcle версии V2.0.

Кажущуюся вязкость антител P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли на приборе для молекулярных характеристик UNcle (Unchained Labs) с использованием метода DLS на основе шариков, который измеряет скорость диффузии шариков полистирола в присутствии составленных растворов антител, согласно рекомендованному протоколу Unchained Labs. Вкратце, 10% раствор шариков полистирола размером 100 нм (Thermo Scientific, номер по каталогу 3100A) готовили в

буфере для составления, содержащем 0,5% твин 80. 3 мкл этой смеси шариков полистирола добавляли к 30 мкл составленного антитела (различные концентрации антитела в 20 мМ гистидине, 260 мМ сахарозы, pH 6,0), и полученную смесь белок/шарики загружали в 3 отдельные дорожки кюветного картриджа UNi (9 мкл на каждую дорожку) для анализа в трех повторностях. Данные анализировали с использованием программного обеспечения для анализа UNcle версии V2.0 с использованием эталонной вязкости 1,3 сП.

Физическую стабильность антител P1-061029, P1-068761 и P1-068767 изучали в условиях ускоренного стресса путем приготовления образцов антител с концентрацией 50 мг/мл в 20 мМ гистидина, 260 мМ сахарозы, pH 6,0, и подвергания термическому стрессу при 40 °C в течение 4 недель. Аликвоты удаляли непосредственно перед инкубацией при 40 °C (нулевое время = t₀), а также через 1 неделю (1 нед.) и 4 недели (4 нед.) термического стресса, и образцы разбавляли до 2 мг/мл с использованием буфера для составления и анализировали с помощью aSEC. Данные aSEC получали с помощью прибора для HPLC Agilent 1260 с использованием колонки Shodex KW403-4F (4,6 мм ID X 300 мм) в буфере, содержащем 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 7,3 (фильтрация 0,2 мкм) при скорости потока 0,30 мл/мин. Данные собирали с помощью детектора на диодной матрице Agilent 1260 Infinity, установленного для сбора при 280 нм, и анализировали с помощью программного обеспечения Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara, CA).

Получили следующие результаты. Данные аналитической эксклюзионной хроматографии (aSEC) показали, что все три антитела могут быть очищены до высокой чистоты, при этом каждый образец антитела состоит из более чем 99,3% мономера (главный пик), менее 0,7% высокомолекулярных (HMW) соединений и неопределяемых уровней низкомолекулярных (LMW) соединений, таблица 16.

Таблица 16: Аналитические данные SEC для анти-VISTA антител, показывающие процент высокомолекулярных соединений (%HMW), процент мономерных/главных соединений (%Главных соединений) и процент низкомолекулярных соединений (%LMW).

Название образца	%HMW	%Главных	%LMW
P1-061029	0.4	99.6	0.0
P1-068761	0.6	99.4	0.0
P1-068767	0.5	99.5	0.0

Профиль варианта заряда, определенный с помощью капиллярного изоэлектрического фокусирования (icIEF) для антитела P1-061029, показал присутствие главных соединений (69,4%) с изоэлектрической точкой (pI) 8,56 и 30,6% кислых соединений. (Фигура 12А-С.) P1-068761 продемонстрировало главные соединения (66,4%) с pI 6,69 и 33,6% кислых соединений. P1-068767 продемонстрировало главные соединения (61,4%) с pI 6,63 и 38,6% кислых соединений. Следовательно, распределение кислых, основных и главных соединений для трех антител является схожим, но сконструированные антитела P1-068761 и P1-068767 имеют значительно более низкую изоэлектрическую точку, чем исходное антитело P1-061029.

Олигомерное состояние P1-061029, P1-068761 и P1-068767 определяли в диапазоне pH 3-9 с использованием динамического рассеяния света (DLS) в буферах с различным pH. Все значения гидродинамического радиуса (Rh) для каждого антитела находились в диапазоне 4,8-5,7 нМ, что типично для образцов мономерных антител, таблица 17. Это дает основание предположить, что эти антитела не образуют детектируемые уровни высокомолекулярных агрегированных соединений при 1 мг/мл в течение первого часа после разведения в составах с pH 3-9.

Таблица 17: Гидродинамический радиус, определенный методом DLS для образцов анти-VISTA антител с концентрацией 1 мг/мл в диапазоне pH от pH 3 до pH 9.

pH	Буфер	Rh (нм) P1-061029	Rh (нм) P1-068761	Rh (нм) P1-068767
9	20 мМ Tris / 1 X PBS	5.2	4.8	5.2
8	20 мМ Tris / 1 X PBS	5.2	5.2	5.2
7	20 мМ Tris / 1 X PBS	4.8	5.2	5.2
7	20 мМ цитрат / 1 X PBS	4.8	5.2	5.7
6	20 мМ цитрат / 1 X PBS	5.2	5.2	4.8
5	20 мМ цитрат / 1 X PBS	5.2	4.8	5.2
4	20 мМ цитрат / 1 X PBS	4.8	4.8	5.2
3	20 мМ цитрат / 1 X PBS	5.2	5.2	5.2

Термическую стабильность P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли в диапазоне pH 3-9 путем мониторинга флуоресценции и статического рассеяния света как функции температуры в буферах с различным pH. Первый переход термической денатурации (Tm1), который обычно представляет денатурацию домена CH2 антител IgG1, определяли по флуоресценции, и он показан в таблице 18, и начало агрегации (Tagg), которое обычно представляет денатурацию домена FАВ антител IgG1,

измеряли с помощью статического рассеяния света, и оно показано в Таблице 19. При нейтральном рН (рН 7,0) в буфере Tris/PBS значения Tm1 для трех антител составили P1-061029 (67,4 °С), P1-068761 (67,0 °С) и P1-068767 (65,3 °С), со значениями Tagg P1-061029 (67,8 °С), P1-068761 (67,5 °С) и P1-068767 (65,8 °С). Значения Tm1 для каждого антитела в буфере цитрат/PBS при том же нейтральном рН 7,0 или немного более кислом рН 6,0 находились в пределах 0,7° от значений в Tris/PBS при рН 7,0. Однако значения Tm1 были немного ниже (на 0,3-1,1° ниже) при более щелочном рН 8-9 и значительно ниже при более кислом рН 3-5 для каждого антитела. По сравнению с нейтральным рН, значение Tagg для P1-061029 находилось в пределах 0,1° от значения при рН 7,0 при более щелочном рН 8,0-9,0, на 1,0° ниже при рН 5,0, и намного ниже (ниже на 6,1° - 19,6°) в наиболее кислых условиях рН 3,0-4,0. Значение Tagg для P1-068761 и P1-068767 также было значительно ниже при рН 3,0-4,0. Однако при рН 5,0 значение Tagg для P1-068761 было только на 0,2° ниже, чем значение Tagg при рН 6,0, тогда как значение Tagg для P1-068767 было на 2,2° ниже при рН 5,0, чем при рН 6,0, демонстрируя некоторые различия в Tagg для каждого антитела, таблица 19.

Таблица 18: Термическая стабильность (значения Tm1) для P1-061029, P1-068761, P1-068767 в диапазоне рН 3-9 по данным флуоресцентной спектроскопии

рН	Буфер	Tm1 (°C) P1-061029	Tm1 (°C) P1-068761	Tm1 (°C) P1-068767
9	20 mM Tris / 1 X PBS	66.6	65.9	65.0
8	20 mM Tris / 1 X PBS	67.0	66.5	64.8
7	20 mM Tris / 1 X PBS	67.4	67.0	65.3
7	20 mM цитрат / 1 X PBS	67.2	66.9	64.8
6	20 mM цитрат / 1 X PBS	67.6	67.5	65.0
5	20 mM цитрат / 1 X PBS	64.4	64.7	62.1
4	20 mM цитрат / 1 X PBS	51.8	52.0	50.8
3	20 mM цитрат / 1 X PBS	30.7	28.1	28.7

Таблица 19: Термическая стабильность (значения Tagg) для P1-061029, P1-068761, P1-068767 в диапазоне рН 3-9, как определено методом статического рассеяния света

рН	Буфер	Tagg (°C) P1-061029	Tagg (°C) P1-068761	Tagg (°C) P1-068767
9	20 mM Tris / 1 X PBS	67.7	67.1	66.0
8	20 mM Tris / 1 X PBS	67.8	67.5	65.8
7	20 mM Tris / 1 X PBS	67.8	68.2	65.9
7	20 mM цитрат / 1 X PBS	67.8	68.1	65.7
6	20 mM цитрат / 1 X PBS	68.1	68.9	65.6

5	20 мМ цитрат / 1 X PBS	66.8	68.7	63.7
4	20 мМ цитрат / 1 X PBS	61.7	63.6	56.9
3	20 мМ цитрат / 1 X PBS	48.2	48.8	41.0

Кажущуюся вязкость P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли с использованием метода DLS на основе шариков, который измеряет скорость диффузии шариков полистирола в присутствии составленных растворов антител. Сравнение всех трех антител при 44 мг/мл показало аналогичную вязкость для обоих сконструированных антител, что и у исходного антитела в этих условиях, таблица 20. Во втором исследовании дополнительный белковый материал для P1-068761 и P1-068767 концентрировали до более высоких концентраций для анализа вязкости при 136 мг/мл, 100 мг/мл и 50 мг/мл. Эти данные показывают повышенную кажущуюся вязкость при более высоких концентрациях антител с максимальной кажущейся вязкостью $5,7 \pm 0,7$ для P1-068761 и $5,3 \pm 0,6$ для P1-068767 при 136 мг/мл.

Таблица 20: Кажущаяся вязкость (в сП) для антител в 20 мМ гистидине, 260 мМ сахарозе, pH 6,0, при 25 °C, как определено методом DLS на основе шариков. Значения представляют среднее и стандартное отклонение данных для трех полос UNi.

Антитело	Кажущаяся вязкость (сП) @ 136 мг/мл	Кажущаяся вязкость (сП) @ 100 мг/мл	Кажущаяся вязкость (сП) @ 50 мг/мл	Кажущаяся вязкость (сП) @ 44 мг/мл
P1-061029				$1,6 \pm 0,1$
P1-068761	$5,7 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,4$
P1-068767	$5,3 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$

Физическую стабильность 50 мг/мл образцов P1-061029, P1-068761 и P1-068767 в 20 мМ гистидине, 260 мМ сахарозе, pH 6,0, изучали в условиях ускоренного стресса при 40 °C в течение 4 недель. Олигомерное состояние антител контролировали с помощью аSEC для образцов непосредственно перед инкубацией при 40 °C (нулевое время = t_0), а также через 1 неделю (1 нед.) и 4 недели (4 нед.) стресса при 40 °C. Эти данные показали, что все три антитела остаются мономерными более чем на 96% после 4 недель при 40 °C, с низкими уровнями HMW соединений (<1,6% HMW) и низкими уровнями LMW соединений (<2,0% LMW), таблица 21.

Таблица 21: Данные аSEC для образцов анти-VISTA антител, подвергнутых ускоренным испытаниям стабильности, показывающие процентное содержание высокомолекулярных соединений (%HMW), процентное содержание мономерных/главных соединений (%Главных соединений) и процентное содержание

низкомолекулярных соединений (% LMW) для образцов в момент времени t0, 1 неделя и 4 недели

Антитело	Образец	% HMW	% Главных соединений	% LMW
P1-061029	t0	0.4	99.7	0.0
	1 неделя	0.5	99.4	0.2
	4 недели	0.8	97.2	2.0
P1-068761	t0	0.6	99.4	0.0
	1 неделя	0.9	98.8	0.3
	4 недели	1.6	96.4	2.0
P1-068767	t0	0.5	99.5	0.0
	1 неделя	0.8	98.9	0.3
	4 недели	1.6	96.4	2.0

Пример 17: Конструирование анти-VISTA антител для уменьшения связывания при нейтральном pH

В этом примере описан отбор антитела против человеческого VISTA, которое связывается с человеческим VISTA при pH 7,0, и его конструирование для получения антител, которые связываются с человеческим VISTA при кислом pH.

Антитело против человеческого VISTA выделяли из гибридом, полученных от мышей huMab, иммунизированных человеческим VISTA. Это Ab, которое обозначается 41F11, относится к изотипу IgG1, и его аминокислотные и нуклеотидные последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепей представлены на фигурах 14A, 14B, 15A, 15B, 16A, 16B, 17A и 17B и в таблица последовательностей ниже. Хотя были идентифицированы три потенциальные легкие цепи (VK1, VK2 и VK3), VK1 (фигуры 15A и B), по-видимому, является функциональной легкой цепью и ее использовали в рекомбинантной экспрессии этого антитела, если не указано иное. Для этого конкретного антитела и любых его вариантов HCDR1 определяли в соответствии с номенклатурой AbM, а все другие пять CDR тяжелой и легкой цепей определяли в соответствии с номенклатурой Kabat.

Создавали рекомбинантное антитело, содержащее VH и VL (VK1) 41F11 и константную область тяжелой цепи IgG1.3 (и легкую цепь 41F11), и оно обозначено как VISTA.4.IgG1.3. Было обнаружено, что аминокислота 64 легкой цепи VK1 является мутацией зародышевой линии (аминокислотный остаток зародышевой линии в этом положении представляет собой G) и, следовательно, была создана легкая цепь VK, в

которой эта аминокислота была заменена на G для отражения зародышевой линии. Это антитело обозначается как VISTA.4.A64G.IgG1.3.

Кинетику связывания VISTA.4 с VISTA человека и яванского макака определяли с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific # 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизовали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с протоколом аминного связывания производителя (GE Healthcare), в результате получая плотность иммобилизации белка, равную 2000 RU на каждую проточную ячейку. Анализ проводили при 37 °C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатного буфера, 0,05% Твин 20) при pH 7,4 и 6,0. VISTA.4 IgG1.3 разбавляли до 25 нМ в PBST, pH 7,4, и захватывали активными проточными ячейками биосенсора при 10 мкл/мин в течение 30 секунд. Серии концентраций 1600-0,78 нМ (pH 7,4) и 100-0,78 нМ (pH 6,0) моновалентных hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) и супо VISTA-ECD (SEQ ID NO: 326) готовили в рабочем буфере, и инжестировали поверх захваченных антител со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Две 15-секундные инъекции 10 мМ глицина с pH 1,5 использовали для регенерации поверхности захвата Белка A между циклами анализа. Константы скорости k_a (k_{on}) и k_d (k_{off}) получали из сенсограмм после вычитания эталонной проточной кюветы и фона при 0 нМ, и подгоняли к модели связывания 1:1 с помощью Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D , рассчитывали как отношение констант скоростей k_{off}/k_{on} , и результаты представлены в таблице 22. Антитело VISTA.4 показало сравнимые (в пределах 2-кратного) кинетические параметры связывания VISTA человека и яванского макака при обоих протестированных значениях pH, подтверждая перекрестную реактивность с супо VISTA. Для VISTA.4 скорость диссоциации k_d в ~ 100 раз была слабее при кислом pH, чем при нейтральном pH, в то время как K_D также была ~ в 10 раз слабее.

Таблица 22: Кинетика связывания VISTA.4 с VISTA человека и яванского макака

Образец	pH 7.4			pH 6.0		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)
huVISTA-His	3.1E+05	8.9E-04	2.9E-09	3.4E+06	7.8E-02	2.3E-08
cyVISTA-	3.1E+05	7.7E-04	2.5E-09	1.9E+06	6.3E-02	3.4E-08

His						
-----	--	--	--	--	--	--

VISTA.4 связывается с более высокой аффинностью с VISTA человека при pH 7,4, чем при pH 6,0. В частности, VISTA.4 имело гораздо более быстрые скорости диссоциации при кислом pH, чем при pH 7,4, тогда как скорость диссоциации неблокирующего антитела VISTA.5 (mAb 1) не зависела от pH (фигура 18B). VISTA.4 также показало более низкое значение Y_{max} при кислом pH, чем при pH 7,4 в анализах клеточного связывания (фигура 18A). Авторы изобретения выдвинули предположение о том, что антитела против рецептор-лигандной области VISTA могут быть способны различать неактивные (меньше или отсутствие протонирования гистидина) и активные (больше протонирования гистидина) состояния. Таким образом, были созданы варианты VISTA.4 для идентификации вариантов, которые имеют улучшенную аффинность при pH 6, и при этом сохраняют связывание при pH 7. Это осуществляли путем скрининга с помощью дрожжевого поверхностного дисплея библиотеки мутационного сканирования VISTA.4, где каждый вариант в библиотеке имеет единственную мутацию в петлях, и каждое положение в петлях заменено всеми возможными аминокислотными остатками. Библиотеку подвергали скринингу с помощью hVISTA-His. Анализ данных мутационного сканирования привел к идентификации мутаций с улучшенным связыванием при pH 6,0. Это привело к созданию вариантов VISTA.4, в которых каждый вариант содержит комбинацию нескольких улучшенных мутаций в пределах и по CDR-областям. Отобранные варианты представлены в таблице 23, а аминокислотные вариации в этих вариантах представлены в таблице 24. Кинетику связывания вариантов с человеческим белком VISTA при нейтральном и кислом pH анализировали с использованием метода SPR, описанного в примере 9 выше, и результаты представлены ниже в таблице 23.

Таблица 23: Кинетика вариантов VISTA.4 с усиленным связыванием при pH 6,0

P1-ID	pH 6.0				pH 7.4				KD отнош. (pH 7.4/ pH 6.0)	Мутации по сравнению с VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)	Коммента- рии	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)	Коммен- тарии		
P1-064532-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_F27E/D31 E/Y50W/S55E/L96E/ Y100E
P1-065320-1	6.94E+05	3.87E-02	5.58E-08		1.38E+04	3.52E-02	2.54E-06	Слабая реакция RU	45.52	41F11_VH_L96EF100 aG VK A64G
P1-065329-1	6.63E+05	7.91E-03	1.19E-08		1.80E+03	8.58E-04	4.78E-07	Слабая реакция RU	40.17	41F11_VH_D31E/S35 Y/Y50W/S55E/A60H/ Y100E/F100aG VK A64G
P1-064508-1				Weak RU response				Слабая реакция RU		41F11_Vk_A25EQ90D R91AR96YA64G
P1-064510-1	1.24E+06	3.12E-03	2.51E-09		6.22E+03	5.27E-04	8.48E-08		33.78	41F11_Vk_A25E/V29 D/A64G/R91T
P1-064548-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_T28P/S35 Y/Y50W/S55E/A60H/ Y100E/F100aG
P1-064490-1	2.09E+05	7.26E-03	3.48E-08		7.18E+03	2.66E-03	3.70E-07	Слабая реакция RU	10.63	41F11_VH_F27EY50E L96E
P1-061528-2	6.16E+05	2.37E-03	3.86E-09		6.26E+03	1.90E-04	3.04E-08		7.88	41F11_NGS mut VK A64G/R91A
P1-065333-1	3.28E+06	1.42E-03	4.34E-10		2.78E+05	8.83E-04	3.17E-09		7.30	41F11_VH_T28P/Y50 W/S55E/L96E/Y100E VK A64G
P1-065313-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_S35Y Vk A64G
P1-064542-1	3.27E+06	1.15E-03	3.51E-10		2.71E+05	6.17E-04	2.28E-09		6.50	41F11_VH_T28P/Y50 W/S55E/L96E/Y100E
P1-064488-1	9.32E+05	3.27E-02	3.50E-08		1.35E+05	2.71E-02	2.02E-07	Слабая реакция RU	5.77	41F11_VH_L96EF100 aG
P1-065326-1	3.52E+06	6.03E-04	1.72E-10		2.89E+05	2.85E-04	9.86E-10		5.73	41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/L96E/Y100E VK A64G
P1-065318-1	1.96E+06	1.54E-02	7.84E-09		1.09E+05	4.20E-03	3.85E-08		4.91	41F11_VH_L96E VK

P1-ID	pH 6.0				pH 7.4				KD отнош. (pH 7.4/ pH 6.0)	Мутации по сравнению с VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммента- рии	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммен- тарии		
										A64G
P1-064528-1	3.49E+06	5.84E-04	1.67E-10		2.96E+05	2.27E-04	7.68E-10		4.60	41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/L96E/Y100E
P1-064514-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_Vk_V29D/A64 G/Q90D/R91T
P1-065323-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_F27E/D31 E/Y50W/S55E/Y100E VK A64G
P1-064484-1	2.13E+06	1.53E-02	7.18E-09		1.35E+05	3.53E-03	2.61E-08		3.64	41F11_VH_L96E
P1-065327-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/Y100E/F100 aG VK A64G
P1-064490-2	2.60E+05	8.18E-03	3.14E-08		2.46E+04	2.30E-03	9.32E-08		2.97	41F11_VH_F27EY50E L96E
P1-064516-1	2.28E+06	1.78E-02	7.81E-09		1.17E+05	2.23E-03	1.91E-08		2.45	41F11_Vk_V29D/A64 G/R91T/R96Y
P1-065335-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_F27E/T28 P/Y50W/S55E/L96E/ Y100E VK A64G
P1-065317-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_Y50EA60H VK A64G
P1-065328-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_F27E/D31 E/Y50W/S55E/L96E/ Y100E VK A64G
P1-064534-1	7.17E+05	6.49E-03	9.05E-09		4.17E+04	6.75E-04	1.62E-08		1.79	41F11_VH_D31E/S35 Y/Y50W/S55E/A60H/ Y100E/F100aG
P1-065325-1	7.99E+06	1.43E-03	1.79E-10		6.18E+05	1.58E-04	2.55E-10		1.42	41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/A60H/Y100E VK A64G
P1-064474-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_S35Y
P1-065336-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_T28P/S35 Y/Y50W/S55E/A60H/ Y100E/F100aG VK A64G
P1-065334-1				Слабая				Слабая		41F11_VH_T28P/Y50

P1-ID	pH 6.0				pH 7.4				KD отнош. (pH 7.4/ pH 6.0)	Мутации по сравнению с VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммента- рии	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммен- тарии		
				реакция RU				реакция RU	W/S55E/Y100E/F100 aG VK A64G	
P1-065330-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU	41F11_VH_F27E/T28 P/Y50W/S55E/Y100E VK A64G	
P1-065332-1	5.41E+06	2.21E-03	4.09E-10		5.17E+05	2.36E-04	4.56E-10	1.11	41F11_VH_T28P/Y50 W/S55E/A60H/Y100E VK A64G	
P1-064540-1	7.16E+06	1.92E-03	2.68E-10		5.53E+05	1.58E-04	2.85E-10	1.06	41F11_VH_T28P/Y50 W/S55E/A60H/Y100E	
P1-063001-5	2.61E+06	1.68E-03	6.44E-10		1.95E+05	1.30E-04	6.65E-10	1.03	41F11_LC Mutant: V29D/A64G/R91T	
P1-063125-5	3.47E+06	1.24E-03	3.56E-10		4.88E+05	1.78E-04	3.65E-10	1.03	41F11_HC Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y1 00E	
P1-063001-6	2.28E+06	1.71E-03	7.51E-10		1.63E+05	1.20E-04	7.37E-10	0.98	41F11_LC Mutant: V29D/A64G/R91T	
P1-064536-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU	41F11_VH_F27E/T28 P/Y50W/S55E/Y100E	
P1-064522-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU	41F11_VH_F27E/D31 E/Y50W/S55E/Y100E	
P1-060879- 18	2.40E+06	3.42E-02	1.43E-08		7.05E+04	8.73E-04	1.24E-08	0.87	41F11	
P1-064544-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU	41F11_VH_T28P/Y50 W/S55E/Y100E/F100 aG	
P1-065319-1	1.32E+06	3.85E-02	2.91E-08		2.09E+05	5.14E-03	2.46E-08	0.85	41F11_VH_F100aG VK A64G	
P1-064526-1	3.84E+06	9.40E-04	2.45E-10		5.55E+05	1.09E-04	1.96E-10	0.80	41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/A60H/Y100E	
P1-063125-4	2.77E+06	1.20E-03	4.35E-10		4.41E+05	1.41E-04	3.20E-10	0.74	41F11_HC Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y1 00E	
P1-063153-5	8.19E+06	1.14E-03	1.39E-10		6.85E+05	6.90E-05	1.01E-10	0.73	41F11_HC mutant: D31E/Y50W/S55E/Y1 00E	
P1-060879- 19	2.18E+06	2.85E-02	1.30E-08		1.02E+05	7.84E-04	7.69E-09	0.59	41F11	
P1-064502-1	4.06E+06	3.32E-01	8.17E-08	Слабая реакция RU	3.01E+05	1.23E-02	4.08E-08	0.50	41F11_Vk_R96YA64G	

P1-ID	pH 6.0				pH 7.4				KD отнош. (pH 7.4/ pH 6.0)	Мутации по сравнению с VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммента- рии	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммен- тарии		
P1-064492-1	1.00E+06	1.40E-01	1.40E-07	Слабая реакция RU	1.97E+05	1.36E-02	6.89E-08		0.49	41F11_VH_S35YA60H F100aG
P1-064500-1	1.67E+06	1.57E-01	9.41E-08	Слабая реакция RU	3.25E+05	1.45E-02	4.47E-08		0.48	41F11_Vk_Q90DA64G
P1-064512-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_Vk_V29D/A34 K/A64G/R91T
P1-064486-1	3.07E+06	1.05E-01	3.43E-08		2.23E+05	3.41E-03	1.53E-08		0.45	41F11_VH_F100aG
P1-063153-4	4.07E+06	9.09E-04	2.23E-10		6.00E+05	4.05E-05	6.75E-11		0.30	41F11_HC mutant: D31E/Y50W/S55E/Y1 00E
P1-065312-1	2.01E+06	4.49E-02	2.23E-08		1.98E+05	1.31E-03	6.61E-09		0.30	41F11_VH_F27E VK_A64G
P1-064530-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_D31E/Y50 W/S55E/Y100E/F100 aG
P1-064494-1	1.36E+06	4.85E-02	3.56E-08		2.00E+05	2.07E-03	1.03E-08		0.29	41F11_Vk_A25EA64G
P1-065316-1	3.86E+06	5.61E-02	1.45E-08		2.42E+05	9.95E-04	4.12E-09		0.28	41F11_VH_A60H_VK A64G
P1-061520- 10	2.31E+06	4.03E-02	1.74E-08		2.31E+05	1.03E-03	4.48E-09		0.26	41F11_Vk:A64G
P1-061520- 11	2.37E+06	3.95E-02	1.66E-08		2.50E+05	1.05E-03	4.19E-09		0.25	41F11_Vk:A64G
P1-060879- 17	3.03E+06	4.08E-02	1.35E-08		3.17E+05	9.14E-04	2.88E-09		0.21	41F11
P1-064472-1	2.29E+06	4.11E-02	1.80E-08		2.74E+05	9.87E-04	3.60E-09		0.20	41F11_VH_F27E
P1-064480-1	2.32E+06	3.29E-02	1.42E-08		3.20E+05	7.55E-04	2.36E-09		0.17	41F11_VH_A60H
P1-064546-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU		41F11_VH_F27E/T28 P/Y50W/S55E/L96E/ Y100E
P1-064478-1	1.26E+05	1.21E-02	9.65E-08		5.54E+04	3.81E-04	6.89E-09		0.07	41F11_VH_Y50E
P1-064482-1	6.39E+04	1.36E-02	2.13E-07		7.16E+04	3.40E-04	4.75E-09	Слабая реакция RU	0.02	41F11_VH_Y50EA60H
P1-064476-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_F27ES35Y
P1-064496-1				нет связывания				Weak RU response	ND	41F11_Vk_A34KA64G

P1-ID	pH 6.0				pH 7.4				KD отнош. (pH 7.4/ pH 6.0)	Мутации по сравнению с VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммента- рии	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Коммен- тарии		
P1-064498-1				Нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_Vk_A25EA34K _A64G
P1-064504-1				Слабая реакция RU				Слабая реакция RU	ND	41F11_Vk_Q90DR91A R96YA64G
P1-064506-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_Vk_A25EA34K R96YA64G
P1-064518-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_Vk_A25E/V29 D/A34K/A64G/R91T/ R96Y
P1-064520-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_Vk_A25E/V29 D/A64G/Q90D/R91T/ R96Y
P1-064524-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_D31E/S35 Y/Y50W/S55E/Y100E
P1-064538-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_T28P/S35 E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065314-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_F27ES35Y VK A64G
P1-065315-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_Y50E VK A64G
P1-065321-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_F27EY50E L96E VK A64G
P1-065322-1				нет связывания				Слабая реакция RU	ND	41F11_VH_S35YA60H F100aG VK A64G
P1-065324-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_D31E/S35 Y/Y50W/S55E/Y100E VK A64G
P1-065331-1				нет связывания				нет связыван ия	ND	41F11_VH_T28P/S35 E/Y50W/S55E/Y100E VK A64G
P1-058268- 102				нет связывания				нет связыван ия	ND	IgG1.3 isotype

Таблица 24: Аминокислотные замены в вариантах VISTA.4 из таблицы 23 по сравнению с VISTA.4 Ab

Назв	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	6 4	LCDR3
P1-064532-1	.E...E...	W.....E.....	.E...E...	A
P1-065320-1E...G..	G
P1-065329-1E...Y	W.....E...H....EG..	G
P1-064508-1E.....	G	.DA...Y.
P1-064510-1E...D....	G	..T.....
P1-064548-1	..P.....Y	W.....E...H....EG..	A
P1-064490-1	.E.....	E.....	.E.....	A
P1-061528-2	G	..A.....
P1-065333-1	..P.....	W.....E.....	.E...E...	G
P1-065313-1Y	G
P1-064542-1	..P.....	W.....E.....	.E...E...	A
P1-064488-1E...G..	A
P1-065326-1E...	W.....E.....	.E...E...	G
P1-065318-1E.....	G
P1-064528-1E...	W.....E.....	.E...E...	A
P1-064514-1D....	G	.DT.....
P1-065323-1	.E...E...	W.....E.....E...	G
P1-064484-1E.....	A
P1-065327-1E...	W.....E.....EG..	G
P1-064490-2	.E.....	E.....	.E.....	A
P1-064516-1D....	G	..T...Y.

Hasb	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	6 4	LCDR3
P1-0653 35-1	.EP.....	W.....E.....	.E...E...	G
P1-0653 17-1	E.....H.....	G
P1-0653 28-1	.E...E...	W.....E.....	.E...E...	G
P1-0645 34-1E...Y	W.....E.....H.....EG..	A
P1-0653 25-1E...	W.....E.....H.....E...	G
P1-0644 74-1Y	A
P1-0653 36-1	..P.....Y	W.....E.....H.....EG..	G
P1-0653 34-1	..P.....	W.....E.....EG..	G
P1-0653 30-1	.EP.....	W.....E.....E...	G
P1-0653 32-1	..P.....	W.....E.....H.....E...	G
P1-0645 40-1	..P.....	W.....E.....H.....E...	A
P1-0630 01-5D.....	G	..T.....
P1-0631 25-5	..P.....	W.....E.....E...	A
P1-0630 01-6D.....	G	..T.....
P1-0645 36-1	.EP.....	W.....E.....E...	A
P1-0645 22-1	.E...E...	W.....E.....E...	A
P1-0608 79-18	GFTFSDYMS (SEQ ID NO: 503)	YISNSGSPIIYADSVKG (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID NO: 505)	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 500)	DASNRAT (SEQ ID NO: 501)	A	QQRNWPRT (SEQ ID NO: 502)
P1-0645 44-1	..P.....	W.....E.....EG..	A
P1-0653 19-1G..	G
P1-0645 26-1E...	W.....E.....H.....E...	A
P1-0631 25-4	..P.....	W.....E.....E...	A
P1-0631 53-5E...	W.....E.....E...	A
P1-0608	GFTFSDYMS (SEQ ID	YISNSGSPIIYADSVKG (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID	RASQSVSSYLA (SEQ ID	DASNRAT (SEQ ID	A	QQRNWPRT (SEQ ID

Hasb	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	6 4	LCDR3
79-19	NO: 503)		NO: 505)	NO: 500)	NO: 501)		NO: 502)
P1-064502-1	GY.
P1-064492-1YH.....G..	A
P1-064500-1	G	.D.....
P1-064512-1D....K	G	.T.....
P1-064486-1G..	A
P1-063153-4E....	W.....E.....E....	A
P1-065312-1	.E.....	G
P1-064530-1E....	W.....E.....EG..	A
P1-064494-1E.....	G
P1-065316-1H.....	G
P1-061520-10	G
P1-061520-11	G
P1-060879-17	GFTFSDYMS (SEQ ID NO: 503)	YISNSGSPIIYADSVKG (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID NO: 505)	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 500)	DASNRAT (SEQ ID NO: 501)	A	QQRNNWPRT (SEQ ID NO: 502)
P1-064472-1	.E.....	A
P1-064480-1H.....	A
P1-064546-1	.EP.....	W.....E.....	.E...E...	A
P1-064478-1	E.....	A
P1-064482-1	E.....H.....	A
P1-064476-1	.E.....Y	A
P1-064496-1K	G
P1-064498-1E.....K	G

Насв	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	6 4	LCDR3
P1-0645 04-1	G	.DA....Y.
P1-0645 06-1E.....K	GY.
P1-0645 18-1E...D...K	G	.T....Y.
P1-0645 20-1E...D....	G	.DT....Y.
P1-0645 24-1E...Y	W....E.....E...	A
P1-0645 38-1	..P.....Y	W....E.....E...	A
P1-0653 14-1	.E.....Y	G
P1-0653 15-1	E.....	G
P1-0653 21-1	.E.....	E.....	.E.....	G
P1-0653 22-1YH....G..	G
P1-0653 24-1E...Y	W....E.....E...	G
P1-0653 31-1	..P..E....	W....E.....E...	G

Для подтверждения измеренных кинетических параметров, полученных для потомства, проявляющего не зависящее от pH связывание с VISTA при кислом и нейтральном pH, анализ кинетики SPR повторяли для выбранных антител из таблиц 23 и 24 против серий концентраций VISTA человека, охватывающих 50-0,39 нМ при pH 7,4 и 6.0. Отношения k_d и K_D рассчитывали, как описано в предыдущих примерах, и результаты показаны в таблице 25.

Таблица 25: Кинетический анализ вариантов VISTA.4

P1 ID	pH 6.0				pH 7.4				pH 6.0/7.4 kd	pH 6.0/7.4 KD	Примечание
	ka (1/мс)	kd (1/с)	kd улучшение по сравнению с исх.	KD (M)	ka (1/мс)	kd (1/с)	kd улучшение по сравнению с исх.	KD (M)			
P1-060879-17	5.7E+06	1.1E-01	1.0	1.9E-08	5.2E+05	8.8E-04	1.0	1.7E-09	121.5	11.3	41F11 исходное
P1-063153-5	3.6E+06	4.6E-04	233.1	1.3E-10	7.8E+05	1.2E-04	7.4	1.5E-10	3.9	0.8	41F11 HC мутант: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065059-1	3.4E+06	4.8E-04	221.5	1.4E-10	7.2E+05	1.0E-04	8.5	1.4E-10	4.6	1.0	41F11 HC мутант: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065326-1	2.9E+06	3.6E-04	294.0	1.2E-10	4.4E+05	3.3E-04	2.7	7.6E-10	1.1	0.2	41F11 VH D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK A64G
P1-064391-1	5.1E+06	3.3E-02	3.3	6.4E-09	4.3E+05	1.6E-02	0.1	3.7E-08	2.1	0.2	41F11_HC мутант: D31E/Y50W/S55E/Y100E 41F11_LC мутант: V29D/A64G/R91T
P1-064392-1	4.8E+06	8.6E-03	12.4	1.8E-09	4.7E+05	7.0E-03	0.1	1.5E-08	1.2	0.1	41F11_HC мутант: D31E/Y50W/S55E/Y100E 41F11_LC мутант: V29D/A64G/Q89E/R91T
P1-063125-4	3.1E+06	7.9E-04	136.0	2.5E-10	7.7E+05	2.0E-04	4.3	2.7E-10	3.9	0.9	41F11 HC мутант: T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-065061-1	1.5E+06	2.2E-04	495.4	1.5E-10	3.7E+05	9.7E-05	9.1	2.6E-10	2.2	0.6	41F11 HC мутант: T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-065333-1	3.4E+06	1.3E-03	81.7	3.8E-10	4.8E+05	9.3E-04	1.0	1.9E-09	1.4	0.2	41F11 VH T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK A64G
P1-063001-5	1.3E+06	1.3E-03	81.7	1.0E-09	3.4E+05	1.3E-04	6.8	3.8E-10	10.2	2.7	41F11 LC мутант: V29D/A64G/R91T
P1-065064-1	1.3E+06	1.3E-03	80.5	1.1E-09	3.3E+05	1.2E-04	7.4	3.6E-10	11.2	3.0	41F11 LC мутант: V29D/A64G/R91T
P1-064510-1	1.2E+06	3.1E-03	35.0	2.6E-09	1.5E+05	6.4E-04	1.4	4.1E-09	4.8	0.6	41F11 VK A25E/V29D/A64G/R91T
P1-061528-2	4.5E+05	2.1E-03	51.4	4.7E-09	1.2E+05	1.7E-04	5.1	1.4E-09	12.0	3.3	41F11 NGS mut VK A64G/R91A
P1-064490-1	6.0E+05	1.3E-02	8.2	2.2E-08	4.3E+04	3.2E-03	0.3	7.5E-08	4.0	0.3	41F11 VH F27E/Y50E/L96E

Эта первоначальная стадия привела к рН-независимым вариантам VISTA.4 с почти эквивалентным значением k_{off} при рН 6 и рН 7. Чтобы получить антитело, которое связывается с hVISTA с высокой аффинностью при рН 6,0 и низкой аффинностью при рН 7,0, разрабатывали и конструировали новую библиотеку на основе на консенсусной последовательности рН-независимых вариантов VISTA.4 с аминокислотными остатками в петлях, замененными на заряженные аминокислотные остатки (см. пример 9), и подвергали скринингу посредством дрожжевого поверхностного дисплея (см. пример 9). Библиотеку анализировали, как описано ранее (см. пример 9), и выбранные варианты переформатировали в IgG1.3 для дальнейшего анализа (таблицы 26 и 27). SPR-анализ проводили на этих вариантах с использованием условий, ранее описанных в примере 9.

Таблица 26: Кинетика 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G и варианты с усиленным связыванием при рН 6,0

ID	рН 7.4			рН 6.0			Название
	Средн. k_a (1/Мс)	Средн. k_d (1/с)	Средн. KD (М)	Средн. k_a (1/Мс)	Средн. k_d (1/с)	Средн. KD (М)	
P1-070976	нет связывания при 100 нМ			1.9E+05	2.8E-03	1.5E-08	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; Vk_A64G
P1-065333	4.3E+05	9.4E-04	2.2E-09	3.8E+06	1.8E-03	4.7E-10	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G
P1-061520	5.5E+05	9.3E-04	1.7E-09	2.3E+06	8.6E-02	3.8E-08	41F11 VK_A64G FW reversion
VISTA.4*	6.0E+05	1.0E-03	1.8E-09	7.3E+05	3.5E-02	4.8E-08	
P1-064510*	1.1E+05	3.9E-04	3.4E-09	7.5E+05	3.6E-03	4.8E-09	41F11_Vk_A25E/V29D; VK_A64G/R91T
P1-065326	4.5E+05	3.2E-04	7.2E-10	2.4E+06	5.1E-04	2.1E-10	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G
P1-064391	6.3E+05	1.9E-02	3.1E-08	2.7E+06	2.7E-02	1.0E-08	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/Y100E; Vk_V29D_A64G/R91T
P1-064392	7.7E+05	7.8E-03	1.1E-08	7.7E+06	1.2E-02	1.6E-09	

Таблица 27: Аминокислотные замены в вариантах VISTA.4 из таблицы 26

ID	LCDR1	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
P1-070976P.....	W.....E.....	HEE..E...
P1-065333P.....	W.....E.....	.E...E...

P1-061520	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 500)	QQRNNWPRT (SEQ ID NO: 502)	GFTFSDYYMS (SEQ ID NO: 503)	YISNSGSPIIYADSVKG (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID NO: 505)
VISTA.4*	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 500)	QQRNNWPRT (SEQ ID NO: 502)	GFTFSDYYMS (SEQ ID NO: 503)	YISNSGSPIIYADSVKG (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID NO: 505)
P1-064510*	.E...D.....	..T.....
P1-065326E.....	W.....E.....	.E...E...
P1-064391D.....	..T.....E.....	W.....E.....E...
P1-064392D.....	E.T.....E.....	W.....E.....E...

По результатам вышеуказанных скринингов один вариант VISTA.4 (41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; VK_A64G (P1-070976)) был идентифицирован как связывающийся с высокой аффинностью с hVISTA при pH 6,0 и не связывающийся в значительной степени с hVISTA при pH 7,4. Дальнейшие кинетические анализы связывания с hVISTA и cynoVISTA проводили на этом варианте и сравнивали с несколькими антителами против hVISTA, описанными в предыдущих примерах. Анализировали связывание каждого антитела с авидином (контрольный белок с высокой рI-специфичностью) при pH 6,0 и 7,4, которое оказалось неопределяемым.

Таблица 28:

Антитело	Описание	Образец	pH 7.4			pH 6.0		
			ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)
VISTA.4 hIgG1.3f	VISTA.4	huVISTA- His	3.1E+0 5	8.9E- 04	2.9E -09	3.4E+06	7.8E-02	2.3E- 08
		cyVISTA- His	3.1E+0 5	7.7E- 04	2.5E -09	1.9E+06	6.3E-02	3.4E- 08
P1- 070976-7	41F11_VH_T2 8P/Y50W/S55 E/D95H/L96E /P97E/Y100E ; Vk A64G	huVISTA- His	6.1E+0 4	1.4E- 01	2.3E -06	2.3E+05	2.8E-03	1.3E- 08
		cyVISTA- His	4.4E+0 3	2.6E- 02	5.9E -06	1.6E+05	3.8E-03	2.4E- 08
P1- 072315-1	41F11_VH_T2 8P/Y50W/S55 E/L96E/Y100 E VK_A64G	huVISTA- His	3.2E+0 5	7.9E- 04	2.5E -09	4.2E+06	1.5E-03	3.5E- 10
		cyVISTA- His	3.5E+0 5	6.8E- 04	1.9E -09	2.7E+06	1.6E-03	6.0E- 10

Как показано в таблице 28, антитело 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; VK_A64G (также обозначаемое как P1-070976) связывается с высокой аффинностью с VISTA как человека, так и яванского макака при pH 6,0 и с низкой аффинностью как с VISTA человека, так и яванского макака при pH 7,4.

Некоторые из мутантов VISTA.4, описанных выше, и новые мутанты тестировали на связывание с hVISTA в соответствии со способами, описанными в примере 9. Результаты, представленные в таблице 29 (аминокислотные последовательности CDR представлены в таблице 30), указывают на то, что большинство мутантов не проявляют связывания ни при pH 6,0, ни при 7,4. Антитело 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/ L96E/P97E/Y100E;VK_A64G (P1-070976) является единственным производным VISTA.4, которое является pH-селективным.

Два мутанта этого pH-селективного производного VISTA.4 создавали для определения того, все ли замены, которые были сделаны для VISTA.4, необходимы для селективности в отношении pH: P1-070976_H95D и P1-070976_E97P (оба с легкой цепью VK_A64G), в которых либо H95 или E97 были мутированы обратно в остаток, D и P, соответственно, в VISTA.4. Как показано в таблице 29 (которая показывает средние скорости по двум экспериментам), H95 не является обязательным для pH-селективности, поскольку его реверсия в D не оказывала значительного влияния на кинетику связывания. Однако E97 является важным для pH-селективности, поскольку его реверсия в P привела к утрате pH-селективности.

Таблица 29:

ID	Описание	Средн. pH 7.4			Средн. pH 6.0		
		ка (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)	ка (1/Мс)	kd (1/с)	KD (М)
P1-071799	P1-070976_H95D	Нет связывания при 100 нМ			1.7E+06	2.7E-02	1.5E-08
P1-071801	P1-070976_E97P	2.9E+04	6.1E-04	2.1E-08	4.6E+05	1.6E-03	3.5E-09
P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G	Нет связывания при 100 нМ			Нет связывания при 100 нМ		
P1-065333	VISTA.4 pH-независимое потомство	2.4E+05	7.8E-04	3.2E-09	2.7E+06	1.5E-03	5.6E-10
P1-	селективное к кислому pH потомство VISTA.4	Нет связывания при 100 нМ			1.1E+05	2.6E-03	2.3E-08

ID	Описание	Средн. рН 7.4 ка (1/Мс)	Средн. рН 7.4 kd (1/с)	Средн. рН 7.4 KD (M)	Средн. рН 6.0 ка (1/Мс)	Средн. рН 6.0 kd (1/с)	Средн. рН 6.0 KD (M)
070976							
P1-061520	VISTA.4 A64G	2.3E+05	9.1E-04	4.0E-09	8.3E+05	3.3E-02	4.0E-08

Таблица 30:

ID	Описание	HCDR1	HCDR2	HCDR3
P1-071799	P1-070976 H95D	..P.....	W.....E.....	.EE..E...
P1-071801	P1-070976 E97P	..P.....	W.....E.....	HE...E...
P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64GED..E	W...EDE.....	.H...EE...
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G	.H.....E	E....D...E.....	HE...E...
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64GH.E..	E.....DH.....	.H..HE...
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64GED..E	E...H.....E.....	.E..HD...
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64GE.D.E	W.E...E...H.....	.H...E..H
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G	...E.E...E	E.E.....D.....	HEE...E...
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64GE..	E.E.....E.....	.H...ED..
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64GHE..H.	WDD...E.....	.E...E.E.
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G	...D.E...D	W.....H...H.....	.E..DE.H.
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G	..E.EE....	W.....DE.....	.EE..EE..
P1-065333	VISTA.4 рН-независимое потомство	..P.....	W.....E.....	.E...E...
P1-	селективное к кислому рН потомство VISTA.4	..P.....	W.....E.....	HEE...E...

ID	Описание	HCDR1	HCDR2	HCDR3
070976			.	
P1-061520	VISTA.4 A64G	GFTFSDYMS (SEQ ID NO: 503)	YISNSGSPYYADSVK G (SEQ ID NO: 504)	DLPGWYFDL (SEQ ID NO: 505)
ID	Описание	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071799	P1-070976 H95D
P1-071801	P1-070976 E97P
P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64G
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64G
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64G
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64G
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64G
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64G
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G
P1-065333	VISTA.4 pH-независимое потомство
P1-070976	селективное к кислому pH потомство VISTA.4
P1-061520	VISTA.4 A64G	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 500)	DASNRAT (SEQ ID NO: 501)	QQRNNWPRT (SEQ ID NO: 502)

Таким образом, в этом примере идентифицированы антитела против VISTA человека, которые связываются с VISTA человека с аффинностью в 200-10000 раз большей при кислом pH, чем при физиологическом pH (фигура 19A). В анализах связывания клеток эти селективные в отношении кислого pH антитела против VISTA продемонстрировали точку перегиба в интенсивности связывания примерно при pH 6,5, аналогично тому, что наблюдалось для связывания VISTA с Т-клетками.

Пример 18: Картирование эпитопа VISTA.4

VISTA.4 использовали в конкурентном анализе связывания эпитопа BLI, описанном в примере 15. Результаты показали, что VISTA.4 конкурирует за связывание с человеческим VISTA с антителами, описанными выше, P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767, и, следовательно, принадлежит к той же группе эпитопов, что и эти антитела (Группа А). VISTA.4 не конкурирует за связывание с VISTA человека с VISTA mAb 1 (VISTA.5; см. фигуру 11A).

Эпитоп VISTA.4 также картировали с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и NGS, как описано в примере 15 для антител P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767. Мутанты VISTA, которые утратили связывание с картируемым антителом, но сохранили связывание с неблокирующим антителом (mAb1), были отсортированы и секвенированы. Поскольку они сохраняли связывание с mAb1, эти мутанты, вероятно, были правильно уложены, и потеря связывания с картируемым антителом, вероятно, была связана с потерей энергетически важного контактного остатка. Положения мутаций, которые привели к потере связывания и которые были обозначены как энергетически важные остатки в эпитопе антитела, показаны в таблице 31 вместе с энергетически важными контактными остатками антител P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767 (также показаны в таблице 14 выше).

Таблица 31: Энергетически важные контактные остатки антител VISTA.4, '029, '015, '761 и '767

mAb	V 34	T 35	Y 37	K 38	T 39	Y 41	S 52	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	E 118	I 119	R 120	H 121	H 122	S 124	E 125	R 127	
VISTA.4	x	x	x		x	x	x	x		x		x	x		x			x	x		x	x	x	x	x	x		
'015			x	x	x			x		x	x	x	x				x	x	x		x					x	x	
'029			x		x	x		x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x					x	x	x
'761		x	x		x			x	x	x	x		x	x	x	x		x	x		x					x	x	x
'767			x		x	x		x	x	x	x	x	x					x	x		x			x	x	x	x	x

Водородно-дейтериевый обмен в сочетании с масс-спектрометрией (HDX-MS) использовали для определения связывающихся эпитопов VISTA человека с mAb VISTA.4. HDX-MS определяет конформацию белка и конформационную динамику в растворе путем мониторинга скорости и степени дейтериевого обмена амидных атомов водорода основной цепи (Huang and Chen (2014) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406, 6541-6558; Wei, et al. *Drug Discovery Today* (2014) 19, 95-102). Уровень HDX зависит от доступности для растворителя амидных атомов водорода основной цепи и водородных связей белка. Увеличение массы белка после HDX можно точно измерить с помощью MS. Когда этот метод сочетается с ферментативным расщеплением, структурные особенности на уровне пептидов могут быть разрешены, что позволяет дифференцировать пептиды, экспонированные на поверхности, от пептидов, свернутых внутри, или от пептидов, которые изолированы на поверхности раздела белок-белкового комплекса. Обычно проводят эксперименты по мечению дейтерием и последующему гашению, за которыми следует ферментативное расщепление, разделение пептидов и анализ MS.

Перед экспериментами по картированию эпитопов проводили эксперименты без дейтерирования для создания списка общих пептидов для рекомбинантного человеческого VISTA (15 мкМ) и белковых комплексов VISTA с mAb VISTA.4 (молярное соотношение 1:1). В эксперименте HDX-MS 5 мкл каждого образца (VISTA или VISTA с mAb VISTA.4) разводили в 55 мкл буфера D₂O (10 мМ фосфатный буфер, D₂O, pH 7,0), чтобы начать реакции мечения. Реакции проводили в течение разных периодов времени: 1 мин, 10 мин и 240 мин. К концу каждого периода реакции мечения реакцию гасили путем добавления гасящего буфера (100 мМ фосфатного буфера с 4М GdnCl и 0,4 М TCEP, pH 2,5, 1:1, об./об.) и 50 мкл погашенного образца инжескировали в систему Waters HDX-MS для анализа. Уровни поглощения дейтерия обычными пептическими пептидами наблюдали в отсутствие/в присутствии VISTA.4. Полученное покрытие последовательностей составило 82%.

Эксперименты HDX-MS обеспечили 85% покрытия последовательностей для VISTA человека. Как показано на фигуре 20A, анализ данных HDX-MS на VISTA.4 в VISTA человека показывает, что эпитоп VISTA.4 состоит из трех областей VISTA человека, причем область 2 является первичным эпитопом (номера остатков соответствуют нативной последовательности VISTA человека, фигура 20B):

Область 1: ⁵⁷LGPVDKGHDVTF⁶⁸ (SEQ ID NO: 498)

Область 2: ⁸⁶RRPIRNLTQDL⁹⁷ (SEQ ID NO: 497)

Область 3: ¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME¹⁶⁵ (SEQ ID NO: 499).

Как описано в приведенных выше примерах, антитело VISTA.4 одинаково хорошо связывается при кислом и нейтральном pH (фигура 19B). Дальнейшие раунды отбора дали вариант, который связывал VISTA с аффинностью в 200 раз более высокой при pH 6,0, чем при pH 7,4 (фигура 19C). Аналогичные попытки с блокирующими VISTA антителами обеспечили варианты с селективностью, которая была вплоть до 10000 раз более высокой для pH 6,0 относительно pH 7,4 (см. примеры до примера 17). VISTA.5 и другие неблокирующие антитела были в значительной степени нечувствительны к кислому pH в клеточных и биофизических анализах (фигуры 18 и 19). На фигуре 18D показано, что блокирующие VISTA антитела часто чувствительны к кислому pH.

Авторы использовали эти антитела для картирования поверхности связывания рецептора VISTA с лигандом при кислом и нейтральном pH. pH-независимые, селективные в отношении нейтрального pH и селективные в отношении кислого pH блокирующие антитела VISTA связывались вблизи идентичных эпитопов, что позволяет предположить, что протонирование гистидина само по себе, без заметных конформационных изменений, контролирует способность VISTA взаимодействовать со своим контррецептором при кислом pH. Эта эпитоп-специфическая чувствительность к pH позволяет предположить, что антитела могут различать активное (кислый pH) и неактивное (нейтральный pH) состояния контактной поверхности лиганда VISTA.

Пример 19: VISTA.4 ингибирует связывание VISTA с Т-клетками при кислом pH.

Этот пример показывает, что VISTA.4 и другие антитела в группе А эпитопа блокировали связывание VISTA с Т-клетками при кислом pH в отличие от VISTA.5 (mAb1) и других антител в группе В эпитопа (фигуры 21А и В).

Этот пример осуществляли в основном так, как описано в примере 4.

Пример 20: VISTA.4 усиливает пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN- γ

В этом примере описаны эффекты блокирующих и не блокирующих VISTA антител (VISTA.4 и VISTA.5, соответственно) на CD4⁺ клетки, совместно культивированные при физиологическом pH с клетками 293Т, сконструированными для экспрессии VISTA и одноцепочечного вариабельного фрагмента агонистического антитела против CD3 ОКТ3 (293Т-scОКТ3-VISTA). Этот эксперимент проводили путем добавления антител VISTA к CD4⁺ Т-клеткам, совместно культивированным с клетками 293Т, сконструированными для экспрессии человеческого VISTA и одноцепочечного вариабельного фрагмента агонистического антитела против Т-

клеточного рецептора ОКТ3 (293Т-ОКТ3-VISTA). CD4+ Т-клетки обогащали из крови здоровых доноров путем отрицательного отбора (StemCell RosetteSep) и метили красителем для пролиферации CellTrace Violet (ThermoFisher). Клетки 293Т были сконструированы для эктопической экспрессии одноцепочечного варибельного фрагмента агонистического моноклонального антитела против CD3 ОКТ3 и человеческого VISTA («293Т-ОКТ3-VISTA»). CD4+ Т-клетки и облученные клетки 293Т-ОКТ3-VISTA совместно культивировали в соотношении 4:1 в RPMI-1640 с добавлением 10% (об./об.) инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамин (Gibco), 2 мМ заменимых аминокислот (Gibco), 1 мМ пирувата натрия (Gibco), 55 мкМ В-меркаптоэтанола и титрованные человеческие антитела против VISTA человека или изотипически сходные контрольные антитела, не связывающиеся с VISTA, в течение 5 дней. Пролиферацию рассчитывали в виде процента CD4+ Т-клеток, подвергшихся разбавлению красителем CellTrace Violet, как определено проточной цитометрией.

Результаты показали, что блокирующие VISTA Abs (Группа А эпитопа) умеренно усиливали пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN- γ (фигура 22). VISTA.5 (mAb1), которое не является блокирующим антителом, не усиливало пролиферацию Т-клеток или продукцию IFN- γ . VISTA.4 не оказывало эффекта при совместном культивировании Т-клеток с клетками 293Т-ОКТ3, которые не экспрессировали VISTA.

Пример 21: VISTA подавлял передачу сигналов NF-kB, опосредованную Т-клеточным рецептором

Этот пример осуществляли для дополнительной оценки влияния рН на функцию VISTA и он показал, что VISTA подавлял опосредованную Т-клеточным рецептором передачу сигналов NF-kB более эффективно при кислом рН, чем при нейтральном рН, хотя умеренный уровень активности сохранялся при рН выше 7,0 (фигура 23). Максимальная супрессия достигалась при рН ниже 6,5, аналогично связыванию VISTA : Т-клетки (фигура 23 и фигура 4А).

Передачу сигнала NF-kB измеряли с использованием клеток NFkB-Reporting Jurkat T-cells в основном так, как описано в примерах 5 и 13. Клетки Jurkat были сконструированы для экспрессии люциферазы под контролем NF-kB-индуцибельного промотора. Эти клетки NFkB-Reporting Jurkat T-cells совместно культивировали с не облученными клетками 293Т-ОКТ3-VISTA в соотношении 4:1 в HBSS (ThermoFisher), подкисленном до различных значений рН с помощью MES, и человеческими

антителами против VISTA человека в течение 4 часов. Активацию клеток Jurkat измеряли с помощью анализа субстрата люциферазы (Promega).

Аналогично, нанесенный на планшет рекомбинантный VISTA наиболее эффективно подавлял фосфорилирование NFκB CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток при pH ниже 7,0 (фигура 23C и D). Для этих экспериментов 96-луночные планшеты с плоским дном, обработанные культурой ткани, покрывали ОКТ3 (0,5 мкг/мл) и либо VISTA-Fc человека (содержащим внеклеточный домен hVISTA, содержащий аминокислоты 33-194 из SEQ ID NO: 1, связанные с домен Fc) или изотипически сходным контрольным антителом (5,0 мкг/мл) в PBS при 37 °C в течение приблизительно 2 часов. Затем лунки промывали PBS и предварительно инкубировали с человеческими антителами против VISTA человека или не связывающимися с VISTA контрольными антителами, разведенными до 5,0 мкг/мл в HBSS, подкисляли до различных значений pH с помощью MES в течение 30 минут. Т-клетки суспендировали в тех же буферах HBSS + MES, добавляли в лунки, центрифугировали и культивировали при 37 °C в течение 15 минут. Затем клетки фиксировали (буфер Cytotfix, BD Biosciences), пермеабелизовали (буфер для пермеабелизации Phosflow Permeabilization Buffer III, BD Biosciences) и окрашивали анти-pNFκB S529 (BD Biosciences) и анти-mIgG вторичными антителами (Jackson Immunoresearch) перед анализом на проточном цитометре. Фосфорилирование NFκB рассчитывали как процент от MFI pNFκB для клеток, стимулированных при pH 7,4 в лунках, покрытых ОКТ3 и изотипически сходным контролем, и предварительно инкубированы с растворимыми не связывающимися изотипически сходными контрольными антителами. Эти результаты указывают на то, что VISTA является более активным при кислом pH, чем при нейтральном pH, и что его функция изменяется с помощью тех же антител, которые блокируют связывание VISTA с Т-клетками при кислом pH. Таким образом, эти данные и данные из примера 20 дают основание предположить, что блокада рецептор-лигандной области контакта VISTA, селективной в отношении кислого pH, может изменить иммуносупрессию.

Пример 22: Анти-VISTA антитело и анти-PD-1 антитело действуют синергетически, вызывая отторжение опухоли

Для характеристики эффектов блокирования селективной к кислому pH контактной поверхности лиганда VISTA в опухоли, получали мышинное суррогатное антитело, VISTA.10, которое блокирует связывание мышинового VISTA с мышинными Т-клетками при кислом pH. (VISTA.10 также связывается с mVISTA при

физиологическом pH.) Антитела против VISTA мыши продуцировали у мышей с нокаутом VISTA, иммунизированных рекомбинантным мышинным VISTA. Спленциты от иммунизированных мышей сливали с линией клеток миеломы Sp2/0. Супернатанты гибридом подвергали скринингу на реактивность по отношению к рекомбинантному мышинному VISTA с помощью ELISA и к мышинному VISTA на клеточной поверхности с помощью проточной цитометрии. Отбирали VISTA.10 и, чтобы избежать взаимодействия с Fc-рецептором и любых последующих эффекторных функций, VISTA.10 преобразовывали в изотип IgG1 с точечной мутацией, D265A, чтобы избежать взаимодействия с Fc-рецептором и эффекторных функций (Clynes et al. (2000) Nat Med 6, 443-446). Опухоли MC38 имплантировали подкожно мышам, и когда опухоли достигли примерно 70 мм², каждые три дня мышей подвергали следующим обработкам: Группа 1: 4 дозы анти-KLH mIgG1-D265A при 30 мг/кг массы тела; Группа 2: две дозы анти-PD-1 mIgG1-D265A при 5 мг/кг; Группа 3: 4 дозы анти-VISTA mIgG1-D265A при 30 мг/кг; и Группа 4: комбинация анти-PD-1 + анти-VISTA. Комбинированное лечение VISTA.10 и блокирующим PD-1 антителом вызывало отторжение опухоли примерно у 70% мышей, которым имплантировали опухоли колоректальной аденокарциномы MC38 (фигуры 24A-D и G-H). Лечение взятыми в отдельности анти-PD-1 или VISTA.10 вызывало незначительную задержку, но не предотвращало прогрессирование опухоли (фигуры 24HВ, С, G и H).

В соответствии с этими результатами, анализ *ex vivo* опухолей от мышей, подвергнутых лечению в течение 7 дней с помощью терапии VISTA.10 и анти-PD-1, показал 5-10-кратное увеличение инфильтрирующих опухоль CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток по сравнению с контрольными мышами (фигура 24E-F). Комбинированная терапия также привела к значительно более низкой экспрессии PD-1, LAG-3 и TIM-3, всех маркеров истощения и дисфункции Т-клеток (ингибиторных рецепторов, связанных с дисфункцией Т-клеток) на инфильтрирующих опухоль CD8⁺ Т-клетках (фигура 25A-C). В соответствии с данными об эффективности, лечение взятыми в отдельности антителами к PD-1 или VISTA оказывало меньшее влияние на частоту и фенотипы Т-клеток (фигуры 24A-F). Внутриопухолевая частота субпопуляции миелоидных клеток, включая частоту макрофагов, моноцитов (например, моноцитарных миелоидных супрессорных клеток (MDSC)) и гранулоцитов (например, гранулоцитарных MDSC) в значительной степени не зависела от лечения антителами к VISTA.

Чтобы контекстуализировать активность антител к VISTA, мышам с нокаутом VISTA имплантировали опухоли MC38 и подвергали лечению блокирующими PD-1 или контрольными антителами. Как показано на фигуре 24I, в контрольных лечебных группах опухоли MC38 росли сопоставимо у мышей с нокаутом VISTA и их однопометников дикого типа. Мыши с нокаутом VISTA проявляли повышенную отвечаемость на анти-PD-1, напоминающую эффективность комбинации VISTA и PD-1. Эта отвечаемость вновь коррелировала с увеличением внутриопухолевых CD4+ и CD8+ Т-клеток. Эти данные свидетельствуют о том, что антитела, которые блокируют связывание VISTA при кислом pH, могут изменить VISTA-опосредованное подавление иммунного ответа и фенотип мышей с нокаутом VISTA.

Поскольку VISTA предпочтительно связывает и подавляет Т-клетки при кислом pH *in vitro*, авторы предположили, что VISTA-опосредованное подавление противоопухолевых ответов происходит преимущественно в микроокружении опухоли. Авторы проверили эту гипотезу использованием селективного по отношению к pH блокирующего антитела против VISTA человека P1-068767 ('767) и его не селективного по отношению к pH родительского антитела P1-061029 ('029) на трансгенных мышах, экспрессирующих внеклеточный домен VISTA человека вместо внеклеточного домена эндогенного VISTA (мыши с нокином VISTA человека, genOway). У мышей с нокином VISTA человека, которым имплантировали опухоли MC38, лечение взятым в отдельности анти-PD-1 вызывало отторжение опухоли у 13% мышей и задерживало прогрессирование опухоли примерно у 20% мышей (фигуры 24 J-M). Лечение взятыми в отдельности '029 или '767 имело незначительный терапевтический эффект (фигуры 24N и O). В комбинации с анти-PD-1 лечение с помощью '029 увеличило скорость отторжения опухоли до 50% (фигуры 24 J-M). Поразительно, что эффективность лечения комбинацией с '767 была почти идентична эффективности '029 (скорость отторжения 56%, фигура 24 J-M). Эти результаты дают основание предположить, что иммуносупрессивная активность VISTA возникает в основном в кислых микроокружениях опухоли, а не в крови или других не кислых тканях.

Измеряли период полужизни P1-068767 (селективное в отношении кислого pH) и P1-061029 (неселективное в отношении pH) у мышей с нокаутом VISTA человека. У мышей дикого типа высокая экспрессия VISTA на миелоидных клетках в крови и лимфоидных органах предрасполагает антитела против VISTA к опосредованному мишеню распределению лекарственных средств (TMDD) и сокращает среднее время

пребывания в сыворотке (MRT, фигура 24R). Аналогичным образом, '029 имеет короткое MRT у мышей с нокином VISTA человека (4,1 часа, фигура 24N). Как показано на фигуре 24N, P1-068767 продемонстрировало почти в 20 раз большее среднее время пребывания (MRT), чем P1-061029, что свидетельствует о слабом связывании с VISTA при pH 7,4 (например, в циркулирующей крови) и, как следствие, сниженное TMDD (71 час и 4,1 часа, соответственно).

Чтобы оценить взаимодействие антител с VISTA периферической крови в нетрансгенной модели, авторы обработали яванских макаков P1-068767 и предпочитаемым нейтральный pH антителом VISTA.4 следующим образом. VISTA.4 и P1-068767 оценивали после 10-минутных внутривенных вливаний яванским макакам, не получавшим белка, в дозе 5 мг/кг (n = 1 на антитело). Серийные образцы крови собирали через 0,17, 0,5, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 168, 216, 240, 336 часов после инфузии. Затем получали образцы сыворотки для анализа концентрации антител с использованием анализа связывания с лигандом, в котором использовали рекомбинантный VISTA в качестве захватывающего агента и mAb против человеческого IgG Fc в качестве детектирующего агента. Нижний предел количественного определения для анализа составлял 1 нг/мл. Среднее время пребывания оценивали с помощью некомпартментного анализа данных по концентрации mAb в сыворотке во время с использованием программного обеспечения Kinetica (версия 5.0, Thermo Fisher Scientific). Результаты показали, что P1-068767 снова продемонстрировало гораздо более длительное MRT (717 часов и 7,6 часов, соответственно, фигура 24O). Эти данные показали, что '767 сохраняет свою селективность в отношении кислого pH *in vivo*. Эти результаты позволяют предположить, что блокада VISTA в микроокружении опухоли, а не в крови и некислотных тканях, управляет противоопухолевой эффективностью.

Пример 23: VISTA.4 ингибирует связывание VISTA с PSGL-1

Иммунорецептор гликопротеиновый лиганд-1 P-селектина (PSGL-1) был идентифицирован ранее как лиганд VISTA (см. WO2018132476). PSGL-1 является рецептором для селектинов, особенно P-селектина, и связывание с его первичным лигандом, P-селектином, является хорошо известным фактором, облегчающим адгезионные взаимодействия между лейкоцитами, тромбоцитами и эндотелиальными клетками (Carlow, D.A., et al., PSGL-1 function in immunity and steady state homeostasis. *Immunol Rev*, 2009. 230(1): p. 75-96, and Abadier, M. and K. Ley, P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. *Curr Opin Hematol*, 2017. 24(3): p. 265-273. 18). PSGL-1 также был

идентифицирован как негативный регулятор Т-клеточных ответов в контексте хронической вирусной инфекции, иммунитета к раковой опухоли и некоторых аутоиммунных заболеваний (Angiari, S., et al., Regulatory T cells suppress the late phase of the immune response in lymph nodes through P-selectin glycoprotein ligand-1. *J Immunol*, 2013. 191(11): p. 5489-500; Matsumoto, M., M. Miyasaka, and T. Hirata, P-selectin glycoprotein ligand-1 negatively regulates T-cell immune responses. *J Immunol*, 2009. 183(11): p. 7204-11; Nunez-Andrade, N., et al., P-selectin glycoprotein ligand-1 modulates immune inflammatory responses in the enteric lamina propria. *J Pathol*, 2011. 224(2): p. 212-21; Perez-Frias, A., et al., Development of an autoimmune syndrome affecting the skin and internal organs in P-selectin glycoprotein ligand 1 leukocyte receptor-deficient mice. *Arthritis Rheumatol*, 2014. 66(11): p. 3178-89; Tinoco, R., et al., PSGL-1 Is an Immune Checkpoint Regulator that Promotes T Cell Exhaustion. *Immunity*, 2016. 44(5): p. 1190-203. Эта иммуносупрессивная функция, по-видимому, не зависит от известных лигандов PSGL-1 (Tinoco, R., et al., PSGL-1: A New Player in the Immune Checkpoint Landscape. *Trends Immunol*, 2017. 38(5): p. 323-335).

В клеточных анализах было показано, что рекомбинантный PSGL-1 и рекомбинантный Р-селектин, оба способны блокировать связывание мультимера VISTA с активированными CD4⁺ Т-клетками человека. Удаление PSGL-1 из активированных CD4⁺ Т-клеток с помощью CRISPR также отменяет связывание мультимера VISTA. Кроме того, было показано, что эктопическая экспрессия PSGL-1 является достаточной для того, чтобы обеспечить связывание VISTA с клетками CHO при кислом pH, и экспрессия VISTA была достаточной для того, чтобы обеспечить связывание PSGL-1 с клетками 293Т при кислом pH. Кроме того, изотермическая титрационная калориметрия (ИТС) подтвердила взаимодействие hPSGL1 и hVISTA и подтвердила, что взаимодействие происходит при pH 6,0, но незначительно при pH 7,4. Анализ методом ИТС также показал, что стехиометрия близка к 1:1 для PSGL1-Fc с VISTA-Fc. и что KD при pH 6,0 находится в высоком наномолярном (нМ) диапазоне (2 измерения при 0,65 мкМ и 0,85 мкМ). Приблизительно в 4 раза более слабое связывание наблюдалось при 37 °С по сравнению с 25 °С. При использовании VISTA-His вместо VISTA-Fc наблюдалась значение KD, равное 2,73 мкМ, которое примерно в четыре раза слабее, чем для VISTA-Fc, предположительно из-за отсутствия авидности для His-меченного VISTA.

Этот пример также показал, что PSGL-1 связывал Р-селектин на сопоставимом уровне при кислом и физиологическом pH, но связывал VISTA только при кислом pH

(фигура 26А). Эксперимент проводили с использованием биосенсорных анализов Octet с VISTA, Р-селектином и минимальным гликопептидом PSGL-1 (аминокислоты 1-19, с сульфотирозином и углеводными посттрансляционными модификациями сиалил-Льюис X), которые, как было показано ранее, поддерживают высокую аффинность связывания Р-селектина (Sako, D., et al., A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. Cell, 1995. 83(2): p. 323-319).

Контактная поверхность лиганда PSGL-1 основывается на отрицательно заряженных посттрансляционных модификациях с помощью сульфотирозина и сиалил-Льюис X для связывания Р-селектина с высокой аффинностью (Sako et al. 1995 Cell 83(2): p. 323-319), и наивные Т-клетки, которые экспрессируют PSGL-1 без присоединения сиалил-Льюис-Х, следовательно, неспособны эффективно взаимодействовать с Р-селектином. PSGL-1 с присоединенным сиалил-Льюис X конститутивно экспрессируется на циркулирующих моноцитах и нейтрофилах, и индуцибельно экспрессируется на активированных Т-клетках, что согласуется с сильным связыванием VISTA с этими типами клеток при кислом рН. Однако было обнаружено, что VISTA связывается как с наивными, так и с активированными Т-клетками, что позволяет предположить, что в отличие от Р-селектина, VISTA связывает PSGL-1 независимо от сиалил-Льюис X. В дополнительных биосенсорных анализах Octet было обнаружено, что, хотя VISTA и Р-селектин оба связываются преимущественно с гликопептидами PSGL-1 с присоединенным сиалил-Льюис X, только VISTA связывал гликопептиды PSGL-1 без сиалил-Льюис X. Кроме того, PSGL-1 продуцировался в клетках, не экспрессирующих ферменты глюкозаминил(N-ацетил)трансферазу (GCNT1) и альфа (1,3)-фукозилтрансферазу-7 (FUT7), лишенных присоединения сиалил-Льюис-Х, и слабо связывался с Р-селектином (фигура 29А). Напротив, VISTA связывал PSGL-1 независимо от сиалил-Льюис X (фигура 29А). Этот результат согласуется с VISTA, но не с Р-селектином, связывающимся с наивными Т-клетками, в которых отсутствует сиалил-Льюис X.

Также, подобно Р-селектину, VISTA умеренно связывается с гепарансульфатом при кислом рН.

Кроме того, антитела к PSGL-1, которые блокируют связывание Р-селектина, не блокируют связывание VISTA. Эти данные указывают на то, что VISTA связывает поверхность контакта PSGL-1, которая схожа, но отличается от таковой, связанной Р-селектином.

Этот пример также показывает, что антитела P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4, которые блокируют связывание VISTA с Т-клетками, также блокируют связывание VISTA с гликопептидом PSGL-1. Были проведены конкурентные анализы Octet, чтобы оценить, блокируют ли селективные в отношении кислого pH антитела против α -VISTA P1-068761 и P1-068767, независимое от pH родительское антитело P1-061029 и чувствительное к кислому pH антитело VISTA.4 связывание VISTA с PSGL1. Анализы связывания выполняли на приборе для биослойной интерферометрии (BLI) OctetRed384 (PALL/ForteBio). Все стадии анализа выполняли при 30 °C при скорости встряхивания 1000 об/мин, и используемый буфер представлял собой PBST, pH 6,0 (137 mM хлорида натрия, 2,7 mM хлорида калия, 10 mM фосфатного буфера, 0,05% Твин 20). Человеческий VISTA-Fc (R&D Systems # 7126-B7) разбавляли до 400 нМ в PBST, pH 6,0, и предварительно смешивали в течение 30 минут с сериями титрований 0 нМ, 40 нМ и 400 нМ P1-068761, P1-068767, P1-061029 и VISTA.4. Белок 19-mer-huFc PSGL1 человека, состоящий из 19 аминоконцевых аминокислот зрелого PSGL1, слитого с человеческим Fc, захватывали сенсорами против IgG-Fc человека (АНС, PALL/ForteBio). Затем сенсоры захвата против человека блокировали общим человеческим IgG (Jackson # 009-000-002). Связывание захваченного PSGL1 со смесью антител к VISTA-Fc/ α -VISTA измеряли для того, чтобы оценить, предотвращали ли антитела к α -VISTA связывание VISTA с PSGL1. Для серий титрования каждого антитела величину связывания VISTA с PSGL1 (сдвиг в нм) нормализовали к 0 нМ неблокированного ответа VISTA:PSGL1, установленному на уровне 100%. Результаты этого анализа представлены в обобщенном виде на фигуре 26B. В этом анализе все антитела P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4 при концентрации 400 нМ продемонстрировали блокирующую активность. Было предотвращено связывание белка VISTA-Fc с захваченным человеческим белком PSGL1-19-mer-huFc, на что указывает наблюдаемое пониженное связывание VISTA.

Кроме того, было продемонстрировано, что связывание VISTA с клетками CHO-PSGL-1 блокировалось как VISTA.4, так и блокирующим Р-селектин антителом KPL-1 к PSGL-1 (фигура 26C). В анализах блокирования антителами к PSGL-1 клетки предварительно инкубировали с KPL-1 (BD Biosciences или Biolegend) или PL2 (MBL) перед мечением нагруженными 32 нМ мультимерами VISTA или химерными белками VISTA-Fc. Связывание VISTA-Fc обнаруживали с помощью антител против IgG (Jackson ImmunoResearch) или против 6xhis (Columbia Biosciences). Клетки

анализировали с помощью проточной цитометрии или гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF).

Пример 24: Кристаллическая структура '767, связанного с hVISTA

Чтобы охарактеризовать структуру VISTA и молекулярные детерминанты связывания антител с VISTA, был получен сокристалл домена IgV hVISTA с антигенсвязывающим фрагментом (Fab) антитела P1-068767. Структуру полученного комплекса определяли с разрешением 1,6 Å (фигура 27A-D). Домен IgV VISTA, как правило, характерен для своего семейства и имеет некоторое сходство с PD-L1 (фигура 24B). Однако, в отличие от PD-L1 и большинства других членов семейства B7 или суперсемейства иммуноглобулинов, две С-концевые β-цепи домена IgV VISTA содержат множество дополнительных остатков, что приводит к необычно удлиненному и богатому гистидином центральному β-листу (фигура 27B). Блокирующее антитело P1-068767 связывается с VISTA на этом удлинении β-листа (фигура 27C), в то время как неблокирующее антитело VISTA.5 связывается с другой областью (фигура 27E). Удлинение β-листа VISTA кэпировано петлей, соединяющей β-цепи, при этом петля включает три остатка гистидина: H121, H122 и H123. Блокирующее антитело '767 связывает эту область, в то время как неблокирующее антитело VISTA.5 связывает другую область домена IgV (фигура 27C и E, соответственно). Остатки E110 и D112 тяжелой цепи антитела P1-068767 (показаны как E100 и D102 на фигуре 27D) образуют водородные связи с остатками H121 и H122 VISTA, соответственно (фигура 27D). Эти взаимодействия хорошо согласуются с выводами, описанными в предыдущих примерах, о том, что остатки E110 и D112 антитела P1-068767 являются необходимыми и достаточными для надления антитела селективностью в отношении кислого pH. В сокристалле остаток H123 VISTA взаимодействует с молекулой сульфата из осадителя и образует солевой мостик с остатком E1 P1-068767; хотя возможно, что H123 VISTA может образовывать полноценную водородную связь с P1-068767 в отсутствие сульфата (фигура 27D). Дополнительные взаимодействия представлены в таблице 32. Эти данные позволяют предположить, что необычное, богатое гистидином удлинение β-листа домена IgV VISTA является ключевым компонентом селективной в отношении кислого pH рецептор-лигандной контактной поверхности VISTA. Протонирование гистидина, особенно по остаткам H153, H154 и H155 (H121, H122 и H123, соответственно, в зрелом hVISTA), может управлять pH-селективным связыванием VISTA с его контррецептором.

В Таблице 32 приведены расстояния в Ангстремах (Å) между атомами '767 Fab HC в пределах 4 Å от атомов VISTA.

Таблица 32:

##	'767 Fab HC	Расст.	VISTA
1	H:GLU 1 [OE1]	3.1	V:HIS 123 [NE2]
2	H:VAL 2 [N]	3.2	V:HIS 123 [O]
3	H:GLY 26 [O]	3.1	V:GLU 125 [N]
4	H:GLU 30 [O]	3.3	V:ARG 54 [NH2]
5	H:GLU 30 [OE1]	3.8	V:ARG 127 [NE]
6	H:GLU 30 [OE1]	3.2	V:ARG 127 [NH2]
7	H:GLU 30 [OE2]	3.4	V:ARG 127 [NH1]
8	H:GLU 30 [OE2]	3.5	V:ARG 127 [NH2]
9	H:ASP 31 [OD1]	2.8	V:ARG 54 [NH1]
10	H:ASP 31 [OD1]	2.7	V:ARG 54 [NH2]
11	H:ASP 31 [OD1]	2.8	V:ARG 127 [NH1]
12	H:ASP 31 [OD2]	3.8	V:ARG 127 [NE]
13	H:ASP 31 [OD2]	3.1	V:ARG 127 [NH1]
14	H:TYR 32 [OH]	2.6	V:GLU 125 [OE1]
15	H:GLU 110 [OE2]	2.8	V:HIS 122 [N]
16	H:GLU 110 [OE1]	2.7	V:HIS 121 [ND1]
17	H:GLU 110 [OE2]	3.8	V:HIS 121 [ND1]
18	H:GLU 110 [OE2]	3.5	V:HIS 122 [ND1]
19	H:ASP 111 [OD1]	3.6	V:HIS 122 [NE2]
20	H:ASP 112 [OD1]	3.5	V:HIS 122 [ND1]

Дополнительные характеристики, касающиеся кристаллографии, представлены в Таблице 33 ниже:

Таблица 33: Статистика сбора и уточнения данных

VISTA + VISTA.18	
Сбор данных	
Пространственная группа	
Размеры ячейки	
a, b, c (Å)	66,17, 125,86, 192,04
α, β, γ (°)	90,0, 90,0, 90,0
Разрешение (Å)	1,61-96,02 (1,61-1,81)*
R_{sym} или R_{merge}	0.049 (0,724)

$I/\sigma I$	18,75 (2,17)
Прозрачность (%)	88,6 (73,9)
Избыточность	6,46 (5,57)
Уточнение	
Разрешение (Å)	1,61-96,02 (1,61-1,73)
Число отражений	55883 (1063)
R_{work}/R_{free}	18,2 / 22,4 (24,3/ 25,8)
Число атомов	
Белок	4281
Лиганд/ион	84
Вода	758
<i>B</i> -факторы	
Белок	33,97
Лиганд/ион	82,40
Вода	42,13
R.m.s. отклонения	
Длина связи (Å)	0,008
Угол связи (°)	1,07

*Значения в скобках представлены для кожуха детектора с наивысшим разрешением

Пример 25: VISTA: специфичность связывания с PSGL-1 определяется по остаткам гистидина и сульфотирозина

Для характеристики специфичности связывания с PSGL-1, в дополнение к специфичности, обеспечиваемой сиалил-Льюисом X (описано в примере 23), авторы изобретения исследовали посттрансляционные модификации - сульфатирование тирозина, которые содействуют связыванию P-селектина. Для тестирования роли сульфатирования тирозина, гликопептиды PSGL-1 фракционировали на пики, богатые сульфотирозином (>90%) и бедные сульфотирозином (<1%), с помощью анионообменной жидкостной хроматографии. Ни VISTA, ни P-селектин не связывались детектируемым образом с бедным сульфотирозином PSGL-1 (фигура 28B и I). VISTA также не мог связывать гликопептиды PSGL-1, в которых тирозины были замещены аланинами (фигура 28J). Эти результаты указывают на то, что остатки сульфотирозина являются ключевыми медиаторами связывания PSGL-1 с VISTA.

Авторы предположили, что специфичность связывания VISTA опосредуется теми же остатками гистидина, которые обнаруживаются в пределах эпитопа блокирующего VISTA антитела: H153, H154 и H155 (пронумерованные в hVISTA с сигнальной последовательностью и соответствующие H121, H122 и H123, соответственно, в зрелом VISTA человека; см. пример 24). Замена этих остатков гистидина отрицательно заряженной аспарагиновой кислотой (H2D) значительно уменьшило связывание VISTA с рекомбинантными клетками PSGL-1 и CHO-PSGL-1 (фигуры 29C-D). Напротив, замена положительно заряженными остатками аргинина (H2R) (положительно заряженная боковая цепь имитирует цепь протонированного гистидина) оставила связывание и функционирование VISTA при кислом pH без изменений, хотя и не обеспечивало связывание при pH 7,4 (фигура 28C-D и F). Замена незаряженным аланином (H2A) имела промежуточный эффект (фигура 8-D). Функциональное тестирование повторяло эти данные по связыванию; мутант H2R VISTA подавлял активацию T-клеток при кислом pH так же сильно, как и VISTA дикого типа, тогда как мутант H2D VISTA имел незначительный эффект (фигура 28F). Блокирующие и неблокирующие VISTA антитела связываются сопоставимым образом с белками дикого типа и всеми мутантными белками VISTA (фигуры 28G и H). Эти результаты дают основание предполагать, что протонирование остатков VISTA H153, H154, H155 и потенциально других гистидинов требуется для связывания PSGL-1.

Белки VISTA-Fc с остатками H153, H154 и H155, мутированными до аланина, аспарагиновой кислоты или аргинина, получали путем транзientной трансфекции клеток Expi293.

Затем авторы изобретения использовали решенные структуры PSGL-1, связанного с P-селектином (Somers, W. S., Tang, J., Shaw, G. D. & Camphausen, R. T. Cell 103, 467-479 (2000)) и VISTA, связанного с P1-068767 Fab (фигура 27) для разработки вычислительной модели 19-мерного гликопептида PSGL-1, стыкованного с VISTA (фигура 28E и K). В этой модели сульфатированные остатки Y46 и Y48 тирозина PSGL-1 осуществляют ионные взаимодействия с остатками H153 и H154 гистидина VISTA (расстояние 2,5 - 3,0 Å). PSGL-1 E56 и сульфатированные остатки Y51 более удалены от VISTA, но могут взаимодействовать с гибкой, богатой гистидином петлей, охватывающей остатки 99-110 VISTA. Y51 PSGL-1 более удален от VISTA (~ 4,5 Å), но может значимо взаимодействовать с H100 VISTA. E56 PSGL-1 также образует ионные взаимодействия с H98 и H100 VISTA. Гидроксильная группа T57PS GL-1, к которой может быть присоединен сиалил-Льюис X, указывает в сторону

от VISTA, что согласуется с незначительным влиянием сиалил-Люиса X на связывание VISTA:PSGL-1. Взятые вместе, эти данные и моделирование дают основание предположить, что связывание VISTA с PSGL-1 при кислом pH в основном обеспечивается остатками H153, H154 и H155 гистидина VISTA, а также остатками Y46 и Y48 сульфатированного тирозина (сульфотирозина) PSGL-1. Эти результаты дают основание предположить, что протонированные остатки гистидина VISTA и сульфатированные остатки тирозина PSGL-1 управляют связыванием.

Недавно сообщалось, что VISTA связывает домен V-set иммуноглобулина, содержащий 3 (VSIG-3), поверхностный рецептор, экспрессируемый в головном мозге, семенниках и некоторых раковых тканях (Wang, J. et al. VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function. *Immunology* 156, 74-85 (2019)). В соответствии с этим отчетом мы наблюдали связывание рекомбинантного VISTA с рекомбинантным VSIG-3. VISTA: связывание VSIG-3 умеренно усиливалось при кислом pH. Однако рекомбинантный VSIG-3 не связывался специфически с клетками, экспрессирующими VISTA, а рекомбинантный VISTA не связывался специфически с клетками, экспрессирующими VSIG-3. VSIG3 также не мог конкурировать с PSGL-1 за связывание с VISTA. Эти данные дают основание предположить, что VSIG-3 вряд ли нарушает VISTA:PSGL-1-опосредованное связывание Т-клеток.

В анализах связывания VSIG-3 клетки CHO и HEK293 были сконструированы для эктопической экспрессии человеческих VSIG-3 и VISTA, соответственно. Экспрессию VSIG-3 подтверждали проточной цитометрией с использованием антитела против VSIG-3 (pAb AF4915, R&D Systems). Экспрессию VISTA подтверждали проточной цитометрией с использованием анти-VISTA (клон 740804, R&D Systems). Анализы связывания клеток проводили в буферах PBS, содержащих 0,9 мМ CaCl₂, 0,05 мМ MgCl₂ и 0,5% BSA, которые доводили до указанного значения pH, варьируя соотношения Na₂HPO₄ и KH₂PO₄. VISTA-Fc и VSIG-3-Fc использовали в концентрации 10 мкг/мл. Связывание выявляли с помощью Fab'2 PE против человеческого IgG (Invitrogen).

Сообщалось также, что VISTA участвует в гомотипическом связывании (Yoon, K. W. et al. Control of signaling-mediated clearance of apoptotic cells by the tumor suppressor p53. *Science* 349, 1261669 (2015)), хотя это взаимодействие не обнаруживается при кислом или нейтральном pH.

Для дальнейшего изучения потенциальной роли H98 и H100 VISTA в связывании с антителами к PSGL1 и VISTA, влияние гистидина на мутации аланина,

аргинина и аспарагиновой кислоты в H98 и H100 определяли индивидуально и в комбинации с мутациями H153, H154 и H155 в hVISTA_{Fc} (Fc человека). Эти слитые с Fc образцы получали в транзистентно трансфицированных клетках Expi293, нормализованных до примерно 250 нМ в буфере с pH 6 или 7,4. Из реакций связывания, которые показаны на фигуре 29, вычитали за эталонный (заблокированный датчик) и представляют собой реакции на 500 нМ huPSGL1 или 250 нМ каждого указанного антитела.

Данные, показанные на фигуре 29, свидетельствуют о том, что H98/H100 hVISTA участвуют в связывании с PSGL1 и (как и предполагалось на основании анализа методом дрожжевого поверхностного дисплея, описанного выше) являются также важными для связывания кислотно-селективных антител P1-068761 ('761) и P1-068767 ('767). В соответствии с предыдущими данными, VISTA.5 и P1-061029 связывались со всеми мутантами. Как и в случае мутанта H153R/H154/H155R, мутант H98R/H100R сохранял связывание с PSGL1, как и комбинация из пяти мутантов. Таким образом, эти данные дополнительно подтверждают роль остатков гистидина 98 и 100 в hVISTA в опосредовании связывания с PSGL1 и pH-селективными антителами '761 and '767.

Таблица последовательностей

Ниже приводится таблица определенных последовательностей, упомянутых в этом описании. В SEQ ID NO: 2 аминокислотное положение 187 может представлять собой D или E.

В приведенных ниже последовательностях антител последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH расположены в аминокислотных положениях, включающих аминокислоты 26-35, 50-66 и 99-110, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL расположены в аминокислотных положениях, включающих аминокислоты 24-35, 51-57 и 90-98, соответственно. CDR1-область VH пронумерована в соответствии с AbM (AA 26-35; Abhinandan and Martin (2008) Mol. Immunol. 45:3832-3839; Swindells et al. (2017) J. Mol. Biol. 429:356-364), а все другие CDR-области (CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1-3 VL) пронумерованы в соответствии с Kabat. Последовательности CDR конкретных видов антител выделены жирным шрифтом и подчеркнуты ниже на их последовательностях VH и VL.

SEQ ID NO	Название	Последовательность
1	hVISTA (c	MGVPTALEAG SWRWGSLLEFA LFLAASLGPV AAFKVAT <u>PYS</u>

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	лидерной последовательностью)	<u>LYVCEPQGNV TLTCRLLGPV DKGHDVTFYK TWYRSSRGEV</u> <u>QTCSERRPIR NLTFQDLHLH HGGHQAANTS HDLAQRHGLE</u> <u>SASDHGNGFS ITMRNLTLDD SGLYCCLVVE IRHHHSEHRV</u> <u>HGAMELOVQT GKDAPSNVCV YPSSSQDSEN ITAAALATGA</u> <u>CIVGILCLPL ILLLVYKQRQ AASNRRQEL VRMDSNIQGI</u> <u>ENPGFEASPP AQGIPEAKVR HPLSYVAQRQ PSESGRHLLS</u> <u>EPSTPLSPPG PGDVFFPSLD PVPDSPNFV I</u>
2	hVISTA (без лидерной последовательности)	<u>FKVATPYSLY VCPEGQNVTL TCRLGPDVK GHDVTFYKTW</u> <u>YRSSRGEVQT CSERRPIRNL TFQDLHLHGG GHQAANTSHD</u> <u>LAQRHGLESA SDHHGNFSIT MRNLTLDDSG LYCCLVVEIR</u> <u>HHHSEHRVHG AMELQVQTGK DAPSNVCVYP SSSQ[D/E]SENIT</u> <u>AAALATGACI VGILCLPLIL LLVYKQRQAA SNRRQELVR</u> <u>MDSNIQGIEN PGFEASPPAQ GIPEAKVRHP LSYVAQRQPS</u> <u>ESGRHLLSEP STPLSPPGPG DVFFPSLDPV PDSPNFV I</u>
3	Прекурсор изоформы 2 PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MPLQLLLLLL LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDIT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPAATE AQTTPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPQPTAME AQTTPAATE AQTTPQPTATE AQTTPAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNPVPG APDHISVKQC LLAILLALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISLLP DGEGGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
4	Изоформа 2 PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDIT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPAATE AQTTPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPQPTAME AQTTPAATE AQTTPQPTATE AQTTPAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNPVPG APDHISVKQC LLAILLALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISLLP DGEGGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
5	ECD изоформы 2 PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MPLQLLLLLL LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDIT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPAATE AQTTPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPQ
6	ECD изоформы 2 PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDIT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPAATE AQTTPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPQ
7	ECD PSGL-1 человека (N-концевые положения 42-295 полноразмерного PSGL-1 человека,	QATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDIT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTPAATE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPAATE AQTTPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPQPTAME AQTTPAATE AQTTPQPTATE AQTTPAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	Accession No. AAC50061)	VTHKGIPMAA SNLSV
8	Прекурсор изоформы 1 HumPSGL-1, с сигнальным пептидом NP_001193538	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQT QPVPTAQT PLAATEAQT RLTATEAQT PLAATEAQT PPAATEAQT QPTGLEAQT APAAMEAQT APAAMEAQT PPAAMEAQT QTTAMEAQT APEATEAQT QPTATEAQT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYVVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
9	PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQT QPVPTAQT PLAATEAQT RLTATEAQT PLAATEAQT PPAATEAQT QPTGLEAQT APAAMEAQT APAAMEAQT PPAAMEAQT QTTAMEAQT APEATEAQT QPTATEAQT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYVVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
10	ECD PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQT QPVPTAQT PLAATEAQT RLTATEAQT PLAATEAQT PPAATEAQT QPTGLEAQT APAAMEAQT APAAMEAQT PPAAMEAQT QT
11	P1-069059 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWDAEDDWGQGTMTVTVSS
12	P1-069059 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
13	P1-069059 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTH TCPPEAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
14	P1-069059 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	P1-069061 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWDAEDDWGQGTMTVTVSS
16	P1-069061 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
17	P1-069061 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
18	P1-069061 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	P1-069063 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNS AEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLETEDA LYYCAK VPGYSGGWIDADDE WGQGTMTVTVSS
20	P1-069063 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
21	P1-069063 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLETEDA LYYCAKVPGYSGGWIDADDEWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
22	P1-069063 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	P1-069065 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNS DDIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLETEDA LYYCAK VPGYSGGWIDAFDV WGQGTMTVTVSS
24	P1-069065 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
25	P1-069065 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSDDIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLETEDA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
26	P1-069065 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	P1-069067 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNS EEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLETEDA LYYCAK VPGYSGGWIDADDE WGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
28	P1-069067 VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
29	P1-069067 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAKVPGYSGGWIDADDEWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
30	P1-069067 LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNRFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	P1-069069 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAAS <u>GFTLDDYAMH</u> WVRQAPGKGLE WVSG <u>INWNSEEIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKNSLYLQMN SLRTE DATALYYCAKVPGYSGGWIDADDVWGQGTMTVTVSS
32	P1-069069 VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
33	P1-069069 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRTE DATALYYCAKVPGYSGGWIDADDVWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
34	P1-069069 LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNRFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	P1-069071 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAAS <u>GFTLEDEAMH</u> WVRQAPGKGLE WVSG <u>INWNSADIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKNSLYLQMN SLRTE DATALYYCAKVPGYSEGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS
36	P1-069071 VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
37	P1-069071 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSADIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRTE DATALYYCAKVPGYSEGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
38	P1-069071 LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLN

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	P1-069073 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GF TLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGMVTVSS
40	P1-069073 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
41	P1-069073 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGF TLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
42	P1-069073 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	P1-069075 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GF TLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSS
44	P1-069075 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
45	P1-069075 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGF TLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	P1-069075 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
47	P1-069077 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GF TLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGMVTVSS
48	P1-069077 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
49	P1-069077 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGF TLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
50	P1-069077 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	P1-068761 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWN SEEIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGMVTVSS
52	P1-068761 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
53	P1-068761 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWN SEEIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	P1-068761 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	P1-068767 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGMVTVSS
56	P1-068767 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
57	P1-068767 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	P1-068767 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	P1-068773 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGMVTVSS
60	P1-068773 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
61	P1-068773 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	P1-068773 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	P1-068765 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTDEDIAM HWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSGGWIDAEEDWGQGTMTVTVSS
64	P1-068765 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
65	P1-068765 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTDEDIAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSGGWIDAEEDWGQGTMTVTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	P1-068765 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	P1-061029 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDIAM HWVRQAPGKGLE WVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS
68	P1-061029 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
69	P1-061029 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDIAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
70	P1-061029 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
71	P1-068757 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAM HWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSGGWIDAEEDWGQGTMTVTVSS
72	P1-068757 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
73	P1-068757 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
74	P1-068757 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	P1-068771 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDEAM</u> HWVRQAPGKGLE WVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSS
76	P1-068771 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
77	P1-068771 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
78	P1-068771 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
79	P1-068775 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDEAM</u> HWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDDWGQGTMTVTVSS
80	P1-068775 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
81	P1-068775 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
82	P1-068775 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	P1-068769 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDEAMH</u> WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSS
84	P1-068769 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
85	P1-068769 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
86	P1-068769 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	P1-068759 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDEAMH</u> WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSS
88	P1-068759 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
89	P1-068759 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	P1-068759 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	P1-068763 VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDYAMH</u> WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSS
92	P1-068763 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
93	P1-068763 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DALLYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	P1-068763 LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	P1-061015 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSYAMH WVRQAPGKGLE WVAI IWYDGSNKYYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDY WGQGLTLTVSS
96	P1-061015 VL	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY DASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
97	P1-061015 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLE WVAI IWYDGSNKYYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDY WGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSK TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	P1-061015 LC	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	P1-068748 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSHAMH WVRQAPGKGLE WVAI IWYDGSNDDYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDY WGQGLTLTVSS
100	P1-068748 VL	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY DASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
101	P1-068748 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSHAMH WVRQAPGKGLE WVAI IWYDGSNDDYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDY WGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSK TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	P1-068748 LC	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	P1-068744 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSEYAMH WVRQAPGKGLE WVAH IWYDGSNKYEADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDE WGQGLTLTVSS
104	P1-068744 VL	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY DASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
105	P1-068744 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMH WVRQAPGKGLE WVAH IWYDGSNKYEADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD DSGFYSSYYFDE WGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSK TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQ Q GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
106	P1-068744 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	P1-068736 VH	QVQLVESGGGVVQGRSLRLS CAAS GFTTFSEYAM HWRQAPGKGLE WVA IDWYDGSNKDYADSVKGR FTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD SGFYDSYYFDD WGQGLTVTVSS
108	P1-068736 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIK
109	P1-068736 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQGRSLRLS CAASGFTTFSEYAMHWRQAPGKGLE WVAIDWYDGSNKDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD SGFYDSYYFDD WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQ Q GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
110	P1-068736 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	P1-068752 VH	QVQLVESGGGVVQGRSLRLS CAAS GFTTFSSYAM HWRQAPGKGLE WVA EIWYDGSNKDYADSVKGR FTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD SGFYDSYYFDE WGQGLTVTVSS
112	P1-068752 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIK
113	P1-068752 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQGRSLRLS CAASGFTTFSSYAMHWRQAPGKGLE WVAEIWYDGSNKDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD SGFYDSYYFDE WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQ Q GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
114	P1-068752 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	P1-068740 VH	QVQLVESGGGVVQGRSLRLS CAAS GFTTFSDYAM HWRQAPGKGLE WVA I IWYDGSNDKYADSVKGR FTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARD SGFYDSYYFDD WGQGLTVTVSS
116	P1-068740 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		<u>NSYPYTFGQGTKLEIK</u>
117	P1-068740 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWVRQAPGKGLE WVAIIWYDGSDDKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDSGFYDSYYFDDWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
118	P1-068740 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	P1-068742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSDYAMHWVRQAPGKGLE</u> WVA <u>I I W Y D G S D K Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A</u> VYY <u>C A R D S G F Y E D Y Y F D Y W G Q G T L L V T V S S</u>
120	P1-068742 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>DASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY</u> <u>NSYPYTFGQGTKLEIK</u>
121	P1-068742 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWVRQAPGKGLE WVAIIWYDGSDDKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDSGFYEDYYFDYWGGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
122	P1-068742 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	P1-068746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLE</u> WVA <u>I I W Y D G S N H H Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A</u> VYY <u>C A R D S G F Y D S Y Y F D Y W G Q G T L L V T V S S</u>
124	P1-068746 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>DASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY</u> <u>NSYPYTFGQGTKLEIK</u>
125	P1-068746 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLE WVAIIWYDGSNHHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDSGFYDSYYFDYWGGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
126	P1-068746 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
127	P1-068750 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYDMH WVRQAPGKGLE WVA EIWDDGSNKYYADSVKGR RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCAR DEEFYSSYYFDY WGQGLTVTVSS
128	P1-068750 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY DASNRAT GI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
129	P1-068750 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWVRQAPGKGLE WVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDEEFYSSYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKLS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	P1-068750 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY DASNRAT GI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK RRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	P1-068738 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSEYAHH WVRQAPGKGLE WVA I IWDDGSNHYYADSVKGR RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARD SGFYEDYYFDY WGQGLTVTVSS
132	P1-068738 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY DASNRAT GI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
133	P1-068738 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAHHWVRQAPGKGLE WVAI IWDDGSNHYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDSGFYEDYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKLS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
134	P1-068738 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY DASNRAT GI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK RRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
135	P1-068754 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYDMH WVRQAPGKGLE WVA EIWDDGSNKYYADSVKGR RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARD SGFHSYYFDY WGQGLTVTVSS
136	P1-068754 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY DASNRAT GI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFATYYC QQY NSYPYTFGQGTKLEIK
137	P1-068754 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWVRQAPGKGLE WVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTA VYYCARDSGFHSYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKLS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
138	P1-068754 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
139	P1-069293 VH (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWN SEEIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSS
140	P1-069293 VL (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
141	P1-069293 HC (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWN SEEIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPS SSVLTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
142	P1-069293 LC (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
143	P1-069298 VH (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS
144	P1-069298 VL (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
145	P1-069298 HC (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPS SSVLTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
146	P1-069298 LC (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
147	P1-069302 VH (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ANIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSGGWIDAFD VWGQGTMTVTVSS
148	P1-069302 VL (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
149	P1-069302 HC (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ANIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE DATALYYCAK VPGYSGGWIDAFD VWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPS SSVLTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
150	P1-069302 LC (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
151	P1-069312 VH (P1-068761.IgG1f афукозилирован- ное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVS GINWNSEEIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA L YYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSS
152	P1-069312 VL (P1-068761.IgG1f афукозилирован- ное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFT FGPGTKVDIK
153	P1-069312 HC (P1-068761.IgG1f афукозилирован- ное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA L YYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
154	P1-069312 LC (P1-068761.IgG1f афукозилирован- ное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
155	P1-069309 VH (P1-068767.IgG1f афукозилирован- ное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVS GIDWNSENIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA L YYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS
156	P1-069309 VL (P1-068767.IgG1f афукозилирован- ное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFT FGPGTKVDIK
157	P1-069309 HC (P1-068767.IgG1f афукозилирован- ное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA L YYCAK VPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
158	P1-069309 LC (P1-068767.IgG1f афукозилирован- ное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
159	P1-069307 VH (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVS GINWNSANIGYADSVKGR RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	афукозилированное)	LYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDV</u> WGQGTMTVTVSS
160	P1-069307 VL (P1-061029. IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
161	P1-069307 HC (P1-061029. IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDHTCPCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
162	P1-069307 LC (P1-061029. IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
163	константная область тяжелой цепи (L234A, L235E, G237A) IgG1.3 (или IgG1.3f)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDHTCPCPCPAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
164	Иллюстративная константная область легкой цепи	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
165	VISTA человека NP_071436.1 (фиг. 1B)	См. фиг. 1B
166	Супо VISTA XP_005565644.1 (фиг. 1B)	См. фиг. 1B
167	VISTA мыши NP_083008.1 (фиг. 1B)	См. фиг. 1B
168	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAFDV
169	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>XX</u> GYSGGWIDAFDV
170	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>XPX</u> YSGGWIDAFDV
171	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>XPGX</u> SGGWIDAFDV
172	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>XPGYX</u> GGWIDAFDV

SEQ ID NO	Название	Последовательность
173	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYS <u>X</u> GWIDAFDV
174	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYS <u>G</u> <u>X</u> GWIDAFDV
175	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSG <u>G</u> <u>X</u> IDAFDV
176	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGW <u>X</u> DAFDV
177	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGW <u>I</u> <u>X</u> AFDV
178	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGWID <u>X</u> FDV
179	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGWID <u>A</u> <u>X</u> DV
180	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAF <u>X</u> V
181	P1-061029 HDR3 олиго чип (фиг. 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAFD <u>X</u>
182	константная область тяжелой цепи IgG1f (аллотип f дикого типа человека)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
183	константная область тяжелой цепи IgG1.1f (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
184	константная область тяжелой цепи IgG1fa.P238K (или IgG1.P238K)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
185	P1-070864 P1-068761_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDEAM</u> HWRQAPGKGLE WVS <u>GINWNSEEIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LY <u>YCAKVPGYSHGWIDAEDV</u> WGQGTMTVTVSS
186	P1-070864 P1-068761_E30D VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY GSSPFT</u> FGPGTKVDIK

SEQ ID NO	Название	Последовательность
187	P1-070864 P1-068761_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEI GYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
188	P1-070864 P1-068761_E30D LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
189	P1-070866 P1-068761_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAM HWVRQAPGKGLE WVSGINWN SEEIGYADSVKGR FTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSS
190	P1-070866 P1-068761_E32Y VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
191	P1-070866 P1-068761_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEI GYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
192	P1-070866 P1-068761_E32Y LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
193	P1-070868 P1-068761_E55A VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAM HWVRQAPGKGLE WVSGINWN SAEIGYADSVKGR FTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQGTMTVTVSS
194	P1-070868 P1-068761_E55A VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
195	P1-070868 P1-068761_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWN SAEIGYADSVKGR FTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTE LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
196	P1-070868 P1-068761_E55A LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
197	P1-070870 P1-	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAM HWVRQAPGKGLE

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	068761_E56N VH	WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
198	P1-070870 P1-068761_E56N VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
199	P1-070870 P1-068761_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
200	P1-070870 P1-068761_E56N LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
201	P1-070872 P1-068761_H100G VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
202	P1-070872 P1-068761_H100G VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
203	P1-070872 P1-068761_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
204	P1-070872 P1-068761_H100G LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
205	P1-070874 P1-068761_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS
206	P1-070874 P1-068761_E100fF VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
207	P1-070874 P1-068761_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
208	P1-070874 P1-	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	068761_E100fF LC	LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
209	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
210	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
211	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
212	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
213	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
214	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
215	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
216	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
217	P1-070880 P1- 068761_H100G_E10 0fF VH	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSS
218	P1-070880 P1- 068761_H100G_E10 0fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
219	P1-070880 P1- 068761_H100G_E10 0fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGLSLRSLCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220	P1-070880 P1- 068761_H100G_E10 0fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
221	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSS
222	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIK
223	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPEAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
224	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
225	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSS
226	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIK
227	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPEAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
228	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
229	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS EEIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGMVTVSS
230	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIK
231	P1-070886 P1-	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	068761_E32Y_H100 G IgG1.3 HC	WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKLSLSLSPG
232	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
233	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
234	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
235	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKLSLSLSPG
236	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
237	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS
238	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
239	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKLSLSLSPG
240	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
241	P1-070892 P1- 068761_E30D_E56N	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	VH	LYYCAK VPGYSHGWIDAEDV WGQTMVTVSS
242	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
243	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYCAKVPYSHGWIDAEDVWGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
244	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
245	P1-070894 P1-068761_E30D_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAAS GFTLDDEAMH WVRQAPGKGLE WVS GINWNSEEIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYCAK VPGYSGGWIDAEDV WGQTMVTVSS
246	P1-070894 P1-068761_E30D_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
247	P1-070894 P1-068761_E30D_H100 G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYCAKVPYSGGWIDAEDVWGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
248	P1-070894 P1-068761_E30D_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
249	P1-070896 P1-068761_E30D_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAAS GFTLDDEAMH WVRQAPGKGLE WVS GINWNSEEIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYCAK VPGYSHGWIDAFDV WGQTMVTVSS
250	P1-070896 P1-068761_E30D_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
251	P1-070896 P1-068761_E30D_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLR LSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLE WVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYCAKVPYSHGWIDAFDVWGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
252	P1-070896 P1-068761_E30D_E100	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQY

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	fF LC	GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
253	P1-070898 P1-068761_E55A_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVSS
254	P1-070898 P1-068761_E55A_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
255	P1-070898 P1-068761_E55A_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
256	P1-070898 P1-068761_E55A_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
257	P1-070900 P1-068761_E56N_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMTVSS
258	P1-070900 P1-068761_E56N_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
259	P1-070900 P1-068761_E56N_H100 G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
260	P1-070900 P1-068761_E56N_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
261	P1-070902 P1-068761_E56N_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVSS
262	P1-070902 P1-068761_E56N_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
263	P1-070902 P1-068761_E56N_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDEAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTE LTA LYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		KEYKCKVSNKALPAIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
264	P1-070902 P1-068761_E56N_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
265	P1-070904 P1-068767_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS
266	P1-070904 P1-068767_E30D VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYG ASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
267	P1-070904 P1-068767_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPEAEGAPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQ KEYKCKVSNKALPAIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
268	P1-070904 P1-068767_E30D LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
269	P1-070906 P1-068767_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS
270	P1-070906 P1-068767_D52N VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYG ASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
271	P1-070906 P1-068767_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS SASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPEAEGAPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQ KEYKCKVSNKALPAIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
272	P1-070906 P1-068767_D52N LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
273	P1-070908 P1-068767_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDD WGQGTMTVTVSS
274	P1-070908 P1-068767_E55A VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYG ASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
275	P1-070908 P1-068767_E55A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	IgG1.3 HC	LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
276	P1-070908 P1-068767_E55A LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
277	P1-070910 P1-068767_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVS GIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGMVTVSS
278	P1-070910 P1-068767_E100fF VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
279	P1-070910 P1-068767_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
280	P1-070910 P1-068767_E100fF LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
281	P1-070912 P1-068767_D102V VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVS GIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGMVTVSS
282	P1-070912 P1-068767_D102V VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
283	P1-070912 P1-068767_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
284	P1-070912 P1-068767_D102V LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
285	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVS GINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSRLEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
286	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
287	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
288	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
289	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDYAMH</u> WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSS
290	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
291	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
292	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
293	P1-070918 P1-068767_E55A_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS <u>GFTLEDYAMH</u> WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGTMTVTVSS
294	P1-070918 P1-068767_E55A_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSSPFT</u> FGPGTKVDIK
295	P1-070918 P1-068767_E55A_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
296	P1-070918 P1-068767_E55A_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC <u>CRASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
297	P1-070920 P1-068767_E100fF_D1 02V VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLEDYAMHW VRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGMVTVSS
298	P1-070920 P1-068767_E100fF_D1 02V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
299	P1-070920 P1-068767_E100fF_D1 02V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
300	P1-070920 P1-068767_E100fF_D1 02V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
301	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDYAMHW VRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSS
302	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
303	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
304	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
305	P1-070924 P1-068767_E30D_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAAS GFTLDDYAMHW VRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGMVTVSS
306	P1-070924 P1-068767_E30D_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC CRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
307	P1-070924 P1-068767_E30D_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLS CAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLE WVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
308	P1-070924 P1- 068767_E30D_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
309	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDV WGQGTMTVTVSS
310	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
311	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDV WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
312	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
313	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAFDD WGQGTMTVTVSS
314	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
315	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100 fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAFDD WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
316	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
317	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAED VWGQGTMTVTVSS
318	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPR LLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQY GSSPFT FGPGTKVDIK
319	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQP GKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGINWNS ENIGYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNLSRTE LTA LYYCAK VPGYSGGWIDAEDV WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHVFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
320	P1-070930 P1-068767_D52N_D102 V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
321	P1-070932 P1-068767_E55A_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLSCAAS GFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWDAEDVWGQGTMTVSS
322	P1-070932 P1-068767_E55A_D102 V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIK
323	P1-070932 P1-068767_E55A_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRSLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLE WVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRTEDTA LYYCAKVPGYSGGWDAEDVWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHVFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
324	P1-070932 P1-068767_E55A_D102 V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
325	hVISTA-ECD 6-His tag	AFKVATPYSYLVCPEGQNVLTLCRLLGPVDKGHDVTFYKT WYRSSRGEVQTCSERRPIRLTFQDLHLHHGGHQAANTSH DLAQRHGLESASDHHGNFSITMRNLTLDSGLYCLLVEI RHHHSEHRVHGAMELQVQTGKDAPSNVCVYPSSSQESENI TAHHHHHHH
326	Cyno VISTA-ECD 6-His tag	AFKVATLYSLVCPEGQNVLTLCRVFGPVDKGHDVTFYKT WYRSSRGEVQTCSERRPIRLTFQDLHLHHGGHQAANTSH DLAQRHGLESASDHHGNFSITMRNLTLDSGLYCLLVEI RHHHSEHRVHGAMELQVQTGKDAPSSCVAYPSSSQESENI TAHHHHHHH
327	P1-069059 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAAGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACCATATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAAGTGGACAGCGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
328	P1-069059 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
329	P1-069061 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAAGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
330	P1-069061 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
331	P1-069063 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAAGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
332	P1-069063 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
333	P1-069065 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAAGATGAAGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACGACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
334	P1-069065 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
335	P1-069067 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
336	P1-069067 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
337	P1-069069 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGATGA TTATGCCATGCACCTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGACGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
338	P1-069069 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
339	P1-069071 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAAGA TGAAGCCATGCACCTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGTGACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGAAGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
340	P1-069071 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
341	P1-069073 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAAGA TGAAGCCATGCACCTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGTGAAATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
342	P1-069073 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
343	P1-069075 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAAGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGGACAGTGTCAAATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
344	P1-069075 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
345	P1-069077 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAAGA TGAAGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACGAAATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
346	P1-069077 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
347	P1-068761 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
348	P1-068761 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
349	P1-068767 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
350	P1-068767 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
351	P1-068773 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGATAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
352	P1-068773 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
353	P1-068765 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCGATGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
354	P1-068765 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
355	P1-061029 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGATGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGTATGCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A

SEQ ID NO	Название	Последовательность
356	P1-061029 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
357	P1-068757 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
358	P1-068757 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
359	P1-068771 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTCAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
360	P1-068771 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
361	P1-068775 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATGATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
362	P1-068775 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AA
363	P1-068769 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAAATTGGAACAGTGATCACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
364	P1-068769 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
365	P1-068759 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
366	P1-068759 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
367	P1-068763 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
368	P1-068763 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
369	P1-061015 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACTCCTCGTACTACT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
370	P1-061015 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
371	P1-068748 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTCA CCATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATGACGACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
372	P1-068748 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
373	P1-068744 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA GTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCACATATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACGAGGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAATCGTACTACT TTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
374	P1-068744 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
375	P1-068736 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA GTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAATTGATTGGTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACT TTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
376	P1-068736 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
377	P1-068752 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAG CTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGAGATATGGTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACT TTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
378	P1-068752 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
379	P1-068740 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA CTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACT TTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
380	P1-068740 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
381	P1-068742 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA CTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACTACT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
382	P1-068742 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTAT AATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCA AA
383	P1-068746 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAG CTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATCACCCTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
384	P1-068746 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
385	P1-068750 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA CTATGACATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATGAGGAATTTTACTCCTCGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
386	P1-068750 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
387	P1-068738 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA GTATGCCCATCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGGATGATGGAAGTAATCACTACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
388	P1-068738 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
389	P1-068754 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGA CTATGACATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTCACTCCGATTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
390	P1-068754 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
391	P1-070864 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATG TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAAGTGGAGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
392	P1-070864 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
393	P1-070866 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAAGTGGAGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
394	P1-070866 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
395	P1-070868 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGTGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAAGTGGAGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
396	P1-070868 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
397	P1-070870 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAAGTGGAGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
398	P1-070870 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
399	P1-070872 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
400	P1-070872 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
401	P1-070874 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
402	P1-070874 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
403	P1-070876 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGATGATTTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
404	P1-070876 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
405	P1-070878 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
406	P1-070878 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
407	P1-070880 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
408	P1-070880 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
409	P1-070882 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
410	P1-070882 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
411	P1-070884 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAACACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		A
412	P1-070884 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
413	P1-070886 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
414	P1-070886 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
415	P1-070888 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
416	P1-070888 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
417	P1-070890 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGATGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGTGATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
418	P1-070890 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
419	P1-070892 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAACACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
420	P1-070892 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
421	P1-070894 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
422	P1-070894 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
423	P1-070896 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
424	P1-070896 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
425	P1-070898 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
426	P1-070898 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
427	P1-070900 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
428	P1-070900 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
429	P1-070902 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAGTTCCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
430	P1-070902 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
431	P1-070904 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGATGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
432	P1-070904 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
433	P1-070906 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
434	P1-070906 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
435	P1-070908 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
436	P1-070908 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
437	P1-070910 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
438	P1-070910 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
439	P1-070912 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTGAGGA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
440	P1-070912 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
441	P1-070914 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGATGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
442	P1-070914 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
443	P1-070916 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
444	P1-070916 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
445	P1-070918 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGTGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A

SEQ ID NO	Название	Последовательность
446	P1-070918 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
447	P1-070920 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGAGGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTAAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
448	P1-070920 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
449	P1-070922 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGATGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCCTAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
450	P1-070922 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
451	P1-070924 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCA AGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACCCTTGATGA TTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTAAAAACATAGGCTATGCGG ACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGTTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
452	P1-070924 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AA
453	P1-070926 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
454	P1-070926 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
455	P1-070928 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
456	P1-070928 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
457	P1-070930 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAAGTTCCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
458	P1-070930 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
459	P1-070932 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTG ACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
460	P1-070932 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTAT GGTAGCTCACCATTCACCTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
461	ДНК, кодирующая константную область тяжелой цепи IgG1.3	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGA CTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGGCTGTCTACAGTCTCAGGAC TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACA CATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCACT CTTCCCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCCT GTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGCCACAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC ACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACT CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGGCTGTCTACA GTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGG GCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCCTGTGGTCAAGTTCACCTGGTACGTGGACGGCGTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCCTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
462	ДНК, кодирующая иллюстративную константную область легкой цепи	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATG AGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
463	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VH 41F11	MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKLEWVSYISNSGSPIIYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSS
464	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK1 VL 41F11	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRRATGIPARFASAGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNWPRTFGQGTKVEIK
465	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK2 VL 41F11	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSDFTLTISSLPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK
466	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK3 VL 41F11	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTLTISSRLEPEDFAVYYCQQYGSPPWTFGQGTKVEIK
467	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VH ДНК 41F11	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCCTTGTTGCTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTGAGTGCAGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATCACCTTCAGTGACTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTTCATACATTAGTAATAGTGGTAGTCCCATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATCACCATCTCCAGGGCAACGCCAAGAAGCTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATCTCCCGGGTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA
468	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK1 VL ДНК	ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTCACTGCCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAACTGAGCTGGCCTCGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
469	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK2 VL ДНК	ATGGACATGAGGGTCCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCCAGGTGCCAGATGTGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACATCACTTGTCCGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACAGAGAAAGCCCCAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
470	Подчеркнута сигнальная последовательность VISTA.4 VK3 VL ДНК	ATGGAACCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACGAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
471	Подчеркнута сигнальная последователь- ность VISTA.4.A64G VK1 VL	<u>MEAPAQLLFLLLLWL</u> PDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS QSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIK
472	Подчеркнута сигнальная последователь- ность VISTA.4.A64G LC	<u>MEAPAQLLFLLLLWL</u> PDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS QSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
473	P1-065333 VH 41F11_VH T28P/Y5 0W/S55E/L96E/Y10 0E VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDE <u>PGWE</u> FDLWGRGTLVTVSS
474	P1-070976 VH 41F11_VH T28P/Y5 0W/S55E/D95H/L96 E/P97E/Y100E VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCAR <u>HEEGWE</u> FDLWGRGTLVTVSS
475	P1-065333 HC 41F11_VH T28P/Y5 0W/S55E/L96E/Y10 0E HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDE <u>PGWE</u> FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPC PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWKYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
476	P1-070976 HC 41F11_VH T28P/Y5 0W/S55E/D95H/L96 E/P97E/Y100E HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCAR <u>HEEGWE</u> FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPC PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWKYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
477	P1-071799 VH P1- 070976_H95D VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDE <u>EGWE</u> FDLWGRGTLVTVSS
478	P1-071801 VH P1- 070976_E97P VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARHE <u>PGWE</u> FDLWGRGTLVTVSS
479	VISTA.4.A64G VK1 VL P1-071799 VL P1-070976_H95D VL P1- 070976_E97P VL P1-070976_A64G VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <u>QSVSSYLAWYQQKPGQAPRL</u> LIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC <u>QQRN</u> <u>NWPRT</u> FGQGTKVEIK
480	P1-071799 HC P1- 070976_H95D HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS <u>CAASGFP</u> FSDDYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPiYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDE <u>EGWE</u> FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
481	P1-071801 HC P1-070976_E97P HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSWISNSGEPITYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARHEPGWEFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDHTHTCPPC PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
482	VISTA.4.A64G VK1 LC P1-071799 LC P1-070976_H95D LC P1-070976_E97P LC P1-070976_A64G LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
483	P1-071799 VH P1-070976_H95D VH ДНК	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGA CTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTTCATGGATTAGTAATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTGTATTACTGTGCGAGAGATGAAGAGGGCTGGGAGTTCGATCTCT GGGGCCGTGGCACCTGGTCACTGTCTCCTCA
484	P1-071801 VH P1-070976_E97P VH ДНК	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGA CTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTTCATGGATTAGTAATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTGTATTACTGTGCGAGACATGAACCGGGCTGGGAGTTCGATCTCT GGGGCCGTGGCACCTGGTCACTGTCTCCTCA
485	P1-071799 VL P1-070976_H95D VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGAGCAGCGTAAC AACTGGCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA
486	P1-071801 VL P1-070976_E97P VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGAGCAGCGTAAC AACTGGCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA
487	P1-071799 HC P1-070976_H95D HC ДНК	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGA CTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTTCATGGATTAGTAATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		<p>GTGTATTACTGTGCGAGAGATGAAGAGGGCTGGGAGTTCGATCTCT GGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGG CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCCCTCTTCCCC CAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTAC ATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCT CACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC CCCGGGTTGA</p>
488	P1-071799 HC P1-070976_ E97P HC ДНК	<p>CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGA CTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTTCATGGATTAGTAATAGTGGTGGAGCCATATACTACGCAG ACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTGTATTACTGTGCGAGACATGAACCGGGCTGGGAGTTCGATCTCT GGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGG CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCCCTCTTCCCC CAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTAC ATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCT CACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC CCCGGGTTGA</p>
489	P1-071799 LC P1-070976_ H95D LC ДНК	<p>GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT</p>

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAAC AACTGGCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCGCGGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA G
490	P1-071799 LC P1-070976_E97P LC ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAAC AACTGGCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCGCGGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA G
491	VISTA.4 HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVQPKGSLRSLCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISNSGSPYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTA VYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPC PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWFYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
492	VISTA.4 VH 41F11 без сигнальной последовательности	QVQLVESGGGLVQPKGSLRSLCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISNSGSPYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTA VYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSS
493	VISTA.4 VK1 VL без сигнальной последовательности	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRAITGIPARFASGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIK
494	VISTA.4 LC без сигнальной последовательности	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRAITGIPARFASGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
495	VISTA.5 VH	AVQLQESGPGLVPRPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWNWI RQFPKSKL EWLGFYGYSGNTNYPNPSLESRISITRHTSKNQFFLHLNSMTTEDTA TYYCARSLYGGSHWYFDVWGAGTTVTVSS
496	VISTA.5 VK1 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRGSESVVEYYGTLIQWYQQKPGQ PPKLLIYGASNVESGVPARFSGSGSDTDFSLNIHPVEEDDIAMYFC QQSRKVPWTFGGGTKLEIK
497	hVISTA остатки 86 - 97	RRPIRNLTFQDL

SEQ ID NO	Название	Последовательность
498	hVISTA остатки 57 - 68	LGPVDKGHDTVTF
499	hVISTA остатки 148 - 165	VVEIRHHHSEHRVHGAME
500	VL CDR1 VISTA.4	RASQSVSSSYLA
501	VL CDR2 VISTA.4	DASNRAT
502	VL CDR3 VISTA.4	QQRNNWPRT
503	VH CDR1 VISTA.4	GFTFSDYYMS
504	VH CDR2 VISTA.4	YISNSGSPPIYYADSVKG
505	VH CDR3 VISTA.4	DLPGWYFDL
506	VH CDR1 P1- 065333	GFPFSDYYMS
507	VH CDR2 P1- 065333	WISNSGEPPIYYADSVKG
508	VH CDR3 P1- 065333	DEPGWEFDL
509	VH CDR1 P1- 070976	GFPFSDYYMS
510	VH CDR2 P1- 070976	WISNSGEPPIYYADSVKG
511	VH CDR3 P1- 070976	HEEGWEFDL
512	VH CDR1 P1- 070976 H95D (P1- 071799)	GFPFSDYYMS
513	VH CDR2 P1- 070976 H95D (P1- 071799)	WISNSGEPPIYYADSVKG
514	VH CDR3 P1- 070976 H95D (P1- 071799)	DEEGWEFDL
515	VH CDR1 P1- 070976 E97P (P1- 071801)	GFPFSDYYMS
516	VH CDR2 P1- 070976 E97P (P1- 071801)	WISNSGEPPIYYADSVKG
517	VH CDR3 P1- 070976 E97P (P1- 071801)	HEPGWEFDL

Формула изобретения

1. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека (hVISTA) в кислых условиях.
2. Выделенное антитело по п. 1, которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, но незначительно в нейтральных или физиологических условиях.
3. Выделенное антитело по п. 1 или 2, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.
4. Выделенное антитело по любому из пп. 1-3, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.
5. Выделенное антитело по любому из пп. 1-4, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , которое по меньшей мере в 1000 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.
6. Выделенное антитело по любому из пп. 1-5, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-5} М или более.
7. Выделенное антитело по любому из пп. 1-6, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-4} М или более.
8. Выделенное антитело по любому из пп. 1-7, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-3} М или более.

9. Выделенное антитело по любому из пп. 1-8, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} М или менее.

10. Выделенное антитело по любому из пп. 1-9, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} М или менее.

11. Выделенное антитело по любому из пп. 1-10, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-9} М или менее.

12. Выделенное антитело по любому из пп. 1-11, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} или менее, и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-4} или более.

13. Выделенное антитело по любому из пп. 1-12, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-7} или менее, и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-5} или более.

14. Выделенное антитело по любому из пп. 1-13, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 5 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

15. Выделенное антитело по любому из пп. 1-14, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

16. Выделенное антитело по любому из пп. 1-15, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 50 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

17. Выделенное антитело по любому из пп. 1-16, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , которое по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

18. Выделенное антитело по любому из пп. 1-17, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.
19. Выделенное антитело по любому из пп. 1-18, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.
20. Выделенное антитело по любому из пп. 1-19, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее.
21. Выделенное антитело по любому из пп. 1-20, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-3} c^{-1} или менее.
22. Выделенное антитело по любому из пп. 1-21, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.
23. Выделенное антитело по любому из пп. 1-22, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.
24. Выделенное антитело по любому из пп. 1-23, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ или менее.
25. Выделенное антитело по любому из пп. 1-24, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-4} c^{-1} или менее.
26. Выделенное антитело по любому из пп. 1-25, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.
27. Выделенное антитело по любому из пп. 1-26, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.
28. Выделенное антитело по любому из пп. 1-27, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или менее.

29. Выделенное антитело по любому из пп. 1-28, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-5} c^{-1} или менее.

30. Выделенное антитело по любому из пп. 1-29, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-3} c^{-1} или более.

31. Выделенное антитело по любому из пп. 1-30, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

32. Выделенное антитело по любому из пп. 1-31, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

33. Выделенное антитело по любому из пп. 1-32, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

34. Выделенное антитело по любому из пп. 1-33, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-2} c^{-1} или более.

35. Выделенное антитело по любому из пп. 1-34, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

36. Выделенное антитело по любому из пп. 1-35, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

37. Выделенное антитело по любому из пп. 1-36, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$ или более.

38. Выделенное антитело по любому из пп. 1-37, где связывание антитела с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях не определяется, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

39. Выделенное антитело по любому из пп. 1-38, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или более.

40. Выделенное антитело по любому из пп. 1-39, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением k_{off} , равным 10^{-4} c^{-1} или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением k_{off} , равным 10^{-2} c^{-1} или более.

41. Выделенное антитело по любому из пп. 1-40, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со значением k_{off} , равным $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} M или более, и со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ или более.

42. Выделенное антитело по любому из пп. 1-41, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} M или менее, и со значением k_{off} , равным $3 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или менее, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} M или более, и со значением k_{off} , равным $7 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ или более.

43. Выделенное антитело по любому из пп. 1-42, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D от 10^{-12} до 10^{-8} M и со значением k_{off} от 10^{-4} до $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$, и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D от 10^{-7} до 10^{-4} M и со значением k_{off} от 3×10^{-3} до 10^{-2} s^{-1} или более.

44. Выделенное антитело по любому из пп. 1-43, где антитело связывается с hVISTA в кислых условиях со значением K_D от 10^{-12} до 10^{-8} M и со значением k_{off} от 10^{-

⁴ до $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ и в нейтральных или физиологических условиях со значением K_D от 10^{-7} до 10^{-4} М и со значением k_{off} от 3×10^{-3} до 10^{-2} с^{-1} или более; и где антитело связывается с Суно VISTA со значением K_D , равным 10^{-7} или менее.

45. Выделенное антитело по любому из пп. 1-44, где антитело связывается с hVISTA со значением K_D , которое по меньшей мере в 10 раз ниже при pH 6,9, чем при pH 7,4, и/или K_D , которое по меньшей мере в 100 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,4, и по меньшей мере в 1000 раз ниже при pH 6,0, чем при pH 7,4.

46. Выделенное антитело по любому из пп. 1-45, где антитело специфически связывается с (Суно) VISTA яванского макака.

47. Выделенное антитело по п. 46, где антитело связывается с Суно VISTA с более высокой аффинностью в кислых условиях по сравнению с физиологическими условиями.

48. Выделенное антитело по любому из пп. 45-47, где антитело связывается с Суно VISTA в кислых условиях со значением K_D , равным 10^{-8} или менее, и/или со значением k_{off} , равным 10^{-2} или менее, и в физиологических условиях со значением K_D , равным 10^{-6} или более, и/или со значением k_{off} , равным 10^{-2} или более.

49. Выделенное антитело по любому из пп. 1-48, где кислые условия представляют собой условия, имеющие pH 6,5 или менее.

50. Выделенное антитело по любому из пп. 1-49, где кислые условия представляют собой условия, имеющие pH от 6,0 до 6,5.

51. Выделенное антитело по любому из пп. 1-50, где нейтральные условия представляют собой условия, имеющие pH 7,0.

52. Выделенное антитело по любому из пп. 1-51, где физиологические условия представляют собой условия, имеющие pH от 7,35 до 7,45.

53. Выделенное антитело по любому из пп. 1-52, где физиологические условия представляют собой условия, имеющие рН 7,4.

54. Выделенное антитело по любому из пп. 1-53, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, такими как человеческие CD4+ Т-клетки (антагонистическое антитело).

55. Выделенное антитело по п. 54, где указанное антитело ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками человека в условиях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

56. Выделенное антитело по любому из пп. 1-55, где антитело ингибирует связывание hVISTA с PSGL-1 человека (huPSGL-1) и/или Ab конкурирует с huPSGL1 за связывание с hVISTA.

57. Выделенное антитело по п. 56, где антитело ингибирует связывание hVISTA с huPSGL-1 в условиях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

58. Выделенное антитело по любому из пп. 1-57, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат-протеогликанами.

59. Выделенное антитело по п. 58, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат-протеогликанами в условиях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

60. Выделенное антитело по любому из пп. 55, 57 или 59, где патологическое состояние, имеющее рН менее чем рН 7,0, представляет собой опухоль или любую пораженную область у субъекта, имеющую рН менее чем рН 7,0, и при котором желательна стимуляция иммунного ответа.

61. Выделенное антитело по любому из пп. 1-60, где антитело стимулирует активацию Т-клеток, о чем свидетельствует, например, усиление пролиферации Т-клеток; усиление продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимуляция опосредованной Т-клеточным рецептором передачи сигналов NF- κ B; как определено, например, как описано в примерах.

62. Выделенное антитело по п. 61, где антитело стимулирует активацию Т-клеток в патологических состояниях, имеющих рН менее чем рН 7,0.

63. Выделенное антитело по любому из пп. 1-62, где антитело снижает опосредованную VISTA межклеточную адгезию.

64. Выделенное антитело по любому из пп. 1-63, где антитело имеет среднее время удержания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400 или 500 дней у яванских макаков.

65. Выделенное антитело по любому из пп. 1-64, где антитело значительно не связывается с VISTA-положительными клетками, например, нейтрофилами в периферической крови субъекта, которому его вводили.

66. Выделенное антитело по любому из пп. 1-65, где антитело значительно не истощает VISTA-положительные клетки, например, нейтрофилы в периферической крови субъекта, которому его вводили.

67. Выделенное антитело по любому из пп. 1-66, где антитело сконструировано для связывания с hVISTA при кислом рН, но где антитело не связывается специфически с hVISTA при нейтральном или физиологическом рН.

68. Выделенное антитело по любому из пп. 1-67, где антитело связывается с богатой гистидином областью hVISTA или рядом с ней, такой как удлинение богатого гистидином β-листа.

69. Выделенное антитело по п. 68, где антитело связывается в богатой гистидином области hVISTA или рядом с ней, такой как удлинение богатого гистидином β-листа, в патологических состояниях, имеющих рН 6,0-6,5.

70. Выделенное антитело по любому из пп. 1-68, где антитело конкурирует или перекрестно конкурирует за связывание с hVISTA с одним или несколькими антителами, описанными в настоящем документе, например, содержащими VH и VL из

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752, P1-068754, VISTA.4 или его производных, таких P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3); как определено, например, с помощью конкурентного анализа связывания эпитопа BLI, описанного в примере 15.

71. Выделенное антитело по любому из пп. 1-70, где антитело связывается с эпитопом Группы А, как определено, например, с помощью конкурентного анализа связывания эпитопа BLI, описанного в примере 15.

72. Выделенное антитело по любому из пп. 1-70, где антитело значительно не связывается с hVISTA, в котором один или несколько из следующих аминокислотных остатков были мутированы: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

73. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA, состоящим из SEQ ID NO: 1 или 2, но значительно не связывается с hVISTA, в котором один или несколько из следующих аминокислотных остатков были мутированы: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115,

V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA; например, как определено с помощью мутационного анализа дрожжей, описанного в примерах.

74. Выделенное антитело по любому из пп. 1-73, где антитело не связывается значительно с hVISTA, в котором мутированы 2, 3, 4, 5 или более из следующих аминокислотных остатков: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

75. Выделенное антитело по любому из пп. 72-74, где антитело значительно не связывается с hVISTA, в котором один или несколько из следующих остатков были мутированы на один из соответствующих остатков, показанных в таблице 15: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

76. Выделенное антитело по любому из пп. 1-75, где Ab связывается с аминокислотной областью ⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷ hVISTA (SEQ ID NO: 497), как определено с помощью HDX-MS, как описано в примерах.

77. Выделенное антитело по любому из пп. 1-76, где Ab связывается с аминокислотными областями ⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷ hVISTA (SEQ ID NO: 497), а также, но менее сильно, с аминокислотами ⁵⁷LGPVDKGHDVTF⁶⁸ (SEQ ID NO: 498) и ¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME¹⁶⁵ (SEQ ID NO: 499).

78. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) T-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактных остатков описанного в настоящем документе антитела, таких как VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, P1-070976_E97P, P1-061015, P1-061029, P1-068761 или P1-068767, таких как одна или несколько аминокислот,

выбранных из одной из следующих групп энергетически важных контактных остатков: (i) V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127; (ii) V34, T35, Y37, T39, Y41, S52, R54, F62, L65, H66, H68, L115, V117, I119, R120, H121, H122, S124, E125; or (iii) Y37, T39, R54, F62, H66, L115 или V117, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

79. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) Т-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

80. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах), где Ab ингибирует взаимодействие между VISTA и (a) Т-клетками или (b) PSGL-1, и где Ab контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков VISTA.4, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15.

81. Выделенное антитело по любому из пп. 1-80, где Ab связывается с петлей FG hVISTA.

82. Выделенное антитело по любому из пп. 1-81, где Ab связывается с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах.

83. Выделенное антитело по любому из пп. 1-82, где Ab контактирует с H121, H122 и H123 hVISTA (расстояние, например, 4,0 ангстрема (Å) или меньше), например, посредством водородных связей, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах.

84. Выделенное антитело по любому из пп. 1-83, где Ab контактирует с hVISTA через CDR1 VH и CDR3 VH, и, например, незначительно через CDR2 VH и/или через CDR VL.

85. Выделенное антитело по любому из пп. 1-84, где аминокислотные остатки 110 и 112 тяжелой цепи антитела образуют водородные связи с H121 и H122 hVISTA, соответственно, и, необязательно, где аминокислотный остаток антитела образует водородную связь с H123 hVISTA, при этом нумерация аминокислот антитела соответствует нумерации, используемой в примерах.

86. Антитело по п. 85, где антитело содержит одно или несколько (например, 1-5, 5-10, 10-15, 10-20 или 15-20) взаимодействий с hVISTA, перечисленных в таблице 31 под VISTA.4.

87. Выделенное антитело по любому из пп. 1-86, где Ab контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH.

88. Выделенное антитело по любому из пп. 1-87, где Ab не связывается значительно с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах).

89. Выделенное антитело по любому из пп. 1-88, где Ab связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5, со значением K_D (или k_{off}), которое по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D и/или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах).

90. Выделенное антитело по любому из пп. 1-89, где Ab не связывается значительно с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах).

91. Выделенное антитело (Ab), которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах), где Ab:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о усиливает активацию Т-клеток, например, повышает пролиферацию Т-клеток; повышает продукцию IFN- γ Т-клетками; и/или стимулирует опосредованную Т-клеточным рецептором передачу сигналов NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;

о контактирует с (i) H121, H122 и/или H123, или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстремов (Å) или менее), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;

о связывается с областью 1: ${}^{57}\text{LGPVVDKGHDVTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); областью 2: ${}^{86}\text{RRPIRNLTFQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и областью 3: ${}^{148}\text{VVEIRHHHSEHRVHGAME}_{165}$ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным с областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;

о конкурирует за связывание с hVISTA (двусторонняя конкуренция) с одним или несколькими антителами, описанными в настоящем документе, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;

о имеет низкое опосредованное мишенью распределение лекарственного средства, что приводит к среднему времени удержания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400, 500, 600 или 700 часов, как измерено, например, как описано в примерах;

о имеет низкий или неопределяемый уровень TMDD; и/или

о имеет низкий или неопределяемый уровень нейтропении.

92. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA в кислых условиях, например, при pH 6,5 со значением K_D (и/или k_{off}), которое по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (как измерено, например, с помощью одного из анализов, описанных в примерах), где Ab:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о усиливает активацию Т-клеток, например, повышает пролиферацию Т-клеток; повышает продукции IFN- γ Т-клетками; и/или стимулирует опосредованную Т-клеточным рецептором передачу сигналов NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важных контактных остатков Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с использованием дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанного в примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидином удлинением β -листа hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;

о контактирует с (i) H121, H122 и/или H123, или (ii) H66, H68, H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстремов (Å) или менее), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, как описано, например, в примерах;

о связывается с областью 1: ${}_{57}\text{LGPVDKGDHDTF}_{68}$ (SEQ ID NO: 498); областью 2: ${}_{86}\text{RRPIRNLTFQDL}_{97}$ (SEQ ID NO: 497); и областью 3:

¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME₁₆₅ (SEQ ID NO: 499) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным с областью 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в примере 18;

о конкурирует за связывание с hVISTA (например, путем двусторонней конкуренции) с одним или несколькими описанными в настоящем документе антителами, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA через по меньшей мере один или несколько остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, которые расположены в CDR1, CDR2 или CDR3 VH;

о имеет низкое опосредованное мишенью распределение лекарственного средства, что приводит к среднему времени удержания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400, 500, 600 или 700 часов, как измерено, например, как описано в примерах;

о имеет низкий или неопределяемый уровень TMDD; и/или

о имеет низкий или неопределяемый уровень нейтропении.

93. Выделенное антитело по любому из пп. 1-92, где антитело имеет изоэлектрическую точку (pI) от 6,5 до 6,8, измеренную, например, с помощью iCIEF.

94. Выделенное антитело по любому из пп. 1-93, где антитело проявляет низкую агрегацию, например, агрегацию, аналогичную или более низкую, чем у VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в примерах.

95. Выделенное антитело по любому из пп. 1-94, где антитело демонстрирует вязкость, аналогичную или более низкую, чем у VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), как определено в примерах.

96. Выделенное антитело по любому из пп. 1-95, где антитело демонстрирует гидродинамический радиус, аналогичный или меньший, чем у VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в примерах.

97. Выделенное антитело по любому из пп. 1-96, где антитело демонстрирует температуру плавления (T_m), аналогичную или более высокую, чем у VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в примерах (например, в примере 16).

98. Выделенное антитело по любому из пп. 1-97, где антитело демонстрирует количество высокомолекулярных соединений, аналогичное или меньшее, чем у VISTA.4 или его производного, такого как P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (например, в контексте IgG1.3 и с VK1.A64G), например, как определено в примерах (например, в примере 16).

99. Выделенное антитело по любому из пп. 1-98, которое представляет собой антитело IgG.

100. Выделенное антитело по п. 99, которое представляет собой антитело IgG1, IgG2 или IgG4 (IgG4 необязательно с заменой S228P (нумерация ЕС)).

101. Выделенное антитело по любому из пп. 1-100, где антитело представляет собой не имеющее эффекторных функций антитело, например, лишенное антитело-зависимой цитотоксичности (ADCC) и/или комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), и/или антитело, которое значительно не связывается с одним или несколькими $Fc\gamma R$, например, $Fc\gamma RIII$.

102. Выделенное антитело по п. 101, где константная область содержит 1-5 мутаций в константной области тяжелой цепи дикого типа, которые снижают эффекторную функцию (например, ADCC и/или CDC) антитела и/или способность связываться с одним или несколькими $Fc\gamma R$, например $Fc\gamma RIII$, по сравнению с таковыми соответствующей константной области тяжелой цепи дикого типа.

103. Выделенное антитело по любому из пп. 1-102, где константная область антитела представляет собой IgG1.3, IgG1.1 или представляет собой IgG1 с заменой P238K (например, IgG1.P238K).

104. Выделенное антитело по любому из пп. 1-103, где антитело обладает эффекторной функцией и/или связывается с одним или несколькими FcγR, например, FcγRIII.

105. Выделенное антитело по п. 104, где антитело афукозилировано (например, афукозилированное антитело IgG1).

106. Выделенное антитело по п. 105, где константная область содержит 1-5 мутаций, которые усиливают эффекторную функцию антитела и/или способность связываться с одним или несколькими FcγR, например, FcγRIII, по сравнению с соответствующей константной областью дикого типа.

107. Выделенное антитело или выделенное антитело по любому из пп. 1-106, где антитело представляет собой 41F11 или VISTA.4, или его вариант.

108. Выделенное антитело по любому из пп. 1-107, где вариант содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL, которые в совокупности по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны таковым 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

109. Выделенное антитело по любому из пп. 1-108, где вариант содержит аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны таковым 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-50, 1-40, 1-30 или 1-20, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

110. Выделенное антитело по любому из пп. 1-109, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или в таблице последовательностей.

111. Выделенное антитело по любому из пп. 1-110, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL антитела против VISTA, раскрытого в примере 1 или в таблице последовательностей.

112. Выделенное антитело по любому из пп. 83-111, где антитело содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или в таблице последовательностей.

113. Выделенное антитело по любому из пп. 1-112, где антитело содержит аминокислотную последовательность VH антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или в таблице последовательностей.

114. Выделенное антитело по любому из пп. 1-113, где антитело содержит аминокислотную последовательность VL антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или в таблице последовательностей.

115. Выделенное антитело по любому из пп. 1-114, где антитело содержит аминокислотные последовательности VH и VL антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или в таблице последовательностей.

116. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека и содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH 41F11 или VISTA.4, или аминокислотные последовательности, которые в совокупности по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны таковым 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

117. Выделенное антитело, которое специфически связывается с VISTA человека и содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотные последовательности, которые в совокупности по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны таковым 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

118. Выделенное антитело по любому из пп. 1-117, содержащее аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH, и CDR1, CDR2 и CDR3 VL 41F11 или VISTA.4, которые в совокупности по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% идентичны таковым 41F11 или VISTA.4, или отличаются от них 1-20, 1-15, 1-10 или 1-5 аминокислотными остатками, такими как аминокислотные замены (например, замены на D, E или H).

119. Выделенное антитело по любому из пп. 1-118, где антитело содержит аминокислотную последовательность VH 41F11 или VISTA.4, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% ей идентична или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например, их замены.

120. Выделенное антитело по любому из пп. 1-119, где антитело содержит аминокислотную последовательность VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% ей идентична или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например, их замены.

121. Выделенное антитело по любому из пп. 1-120, где антитело содержит аминокислотные последовательности VH и VL 41F11 или VISTA.4, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% ей идентична или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например их замены.

122. Выделенное антитело по любому из пп. 1-121, где антитело содержит аминокислотную последовательность HC антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% ей идентична или содержат 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например, их замены.

123. Выделенное антитело по любому из пп. 1-122, где антитело содержит аминокислотную последовательность LC антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% ей идентична или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например, их замен.

124. Выделенное антитело по любому из пп. 1-123, где антитело содержит аминокислотные последовательности HC и LC антитела против VISTA, раскрытого в примере 17 или таблице последовательностей, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% ей идентична или содержит 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 или 1-5 изменений аминокислот, например, их замены.

125. Выделенное антитело по любому из пп. 1-124, где антитело содержит CDR-области VH из VISTA.4 (SEQ ID No: 503-505), P1-070976 (SEQ ID No: 509-511), P1-065333 (SEQ ID No: 506-508), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 512-514) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 515-517).

126. Выделенное антитело по любому из пп. 1-125, где антитело содержит CDR-области VL из VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 500-502).

127. Выделенное антитело по любому из пп. 1-126, где антитело содержит CDR-области VH и VL из VISTA.4 (SEQ ID No: 503-505 и 500-502, соответственно), P1-070976 (SEQ ID No: 509-511 и 500-502, соответственно), P1-065333 (SEQ ID No: 506-508 и 500-502, соответственно), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 512-514 и 500-502, соответственно) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 515-517 и 500-502, соответственно).

128. Выделенное антитело по любому из пп. 1-127, где антитело содержит VH из VISTA.4 (SEQ ID NO: 492), P1-070976 (SEQ ID NO: 474), P1-065333 (SEQ ID NO: 473), P1-070976_H95D (SEQ ID NO: 477) или P1-070976_E97P (SEQ ID NO: 478).

129. Выделенное антитело по любому из пп. 1-128, где антитело содержит VL из VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D или P1-070976_E97P (с или без A64G) (соответствует SEQ ID NO: 493 (без A64G) или SEQ ID NO: 479 (с A64G)).

130. Выделенное антитело по любому из пп. 1-129, где антитело содержит VH и VL (с или без A64G в VL) из VISTA.4 (SEQ ID No: 492 и 479 или SEQ ID No: 492 и 493), P1-070976 (SEQ ID No: 474 и 479 или SEQ ID No: 474 и 493), P1-065333 (SEQ ID No: 475 и 479 или SEQ ID No: 475 и 493), P1-070976_H95D (SEQ ID No: 477 и 479 или SEQ ID No: 477 и 493) или P1-070976_E97P (SEQ ID No: 478 и 479 или SEQ ID No: 478 и 493).

131. Выделенное антитело по любому из пп. 1-130, где антитело содержит HC из VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NO: 491), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NO: 476), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NO: 475), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO: 480) или P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO: 481).

132. Выделенное антитело по любому из пп. 1-131, где антитело содержит LC VISTA.4.IgG1.3, P1-070976.IgG1.3, P1-065333.IgG1.3, P1-070976_H95D.IgG1.3 или P1-070976_E97P.IgG1.3 (с или без A64G в VL) (SEQ ID NO: 494 (без A64G) или SEQ ID NO: 482 (с A64G)).

133. Выделенное антитело по любому из пп. 1-132, где антитело содержит HC и LC (с или без A64G в VL) из VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 491 и 494 или SEQ ID No: 491 и 482), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NO: 476 и 494 или SEQ ID No: 476 и 482), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NO: 475 и 494 или SEQ ID No: 475 и 482), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO: 480 и 494 или SEQ ID No: 480 и 482) или P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO: 481 и 494 или SEQ ID No: 481 и 482).

134. Выделенное антитело по любому из пп. 1-133, которое представляет собой полноразмерное антитело или антитело, содержащее полноразмерную тяжелую цепь (с или без C-концевого лизина) и полноразмерную легкую цепь.

135. Выделенное антитело по любому из пп. 1-130, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

136. Выделенное антитело по любому из пп. 1-135, которое представляет собой мультимерное (например, димерное или тримерное) антитело.

137. Выделенное антитело по любому из пп. 1-136, которое связано (например, ковалентно) с другой молекулой.

138. Выделенное антитело по п. 137, где другая молекула представляет собой метку.

139. Выделенное антитело по п. 137 или 138, где другая молекула представляет собой пептид.

140. Выделенное антитело по любому из пп. 1-139, которое представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC) или активируемое антитело.

141. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп. 1-140.

142. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела по любому из пп. 1-140.

143. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь антитела по любому из пп. 1-140, и нуклеиновую кислоту, кодирующую легкую цепь антитела.

144. Клетка, содержащая выделенную нуклеиновую кислоту по любому из пп. 141-142 или композицию по п. 143.

145. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки по п. 144 в условиях, в которых антитело экспрессируется.

146. Композиция, содержащая изолированное антитело, нуклеиновую кислоту, композицию или клетку по любому из пп. 1-145 и фармацевтически приемлемый носитель.

147. Композиция по п. 146, содержащая второй терапевтический агент.

148. Композиция по п. 147, где второй терапевтический агент содержит иммуностимулирующее средство.

149. Композиция по п. 148, где иммуностимулирующее средство содержит антагонист иммуносупрессивной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонист иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

150. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из пп. 1-149, которое стимулирует иммунный ответ и/или является антагонистическим антителом против VISTA.

151. Способ по п. 150, где субъект имеет VISTA-положительные клетки, например, в опухоли рака.

152. Способ по п. 151, где VISTA-положительные клетки содержат VISTA-положительные инфильтрирующие лимфоцитарные (например, Т-клетки) или миеломоноцитарные клетки.

153. Способ по любому из пп. 150-152, где субъекта сначала тестируют на присутствие VISTA-позитивных клеток в опухоли, и при этом субъекта подвергают лечению, если субъект имеет VISTA-положительные клетки, например, в опухоли.

154. Способ по любому из пп. 150-153, где способ дополнительно включает проведение второй терапии.

155. Способ по п. 154, где вторая терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство или введение второго агента.

156. Способ по п. 155, где вторая терапия включает второй агент, и второй агент представляет собой иммуностимулирующее средство.

157. Способ по п. 156, где иммуностимулирующее средство содержит антагонист иммуносупрессивной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонист иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

158. Способ лечения инфекционного заболевания (например, вирусного заболевания) у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из пп. 1-157, которое стимулирует иммунный ответ и/или является антагонистом VISTA.

159. Способ обнаружения VISTA в образце, включающий приведение образца в контакт с антителом против VISTA по любому из пп. 1-140.

160. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует опосредованную VISTA активацию Т-клеток, при этом антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH тяжелой цепи (VH), содержащей или состоящей из SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 или 492 (например, SEQ ID No: 503-505, 506-508, 509-511, 512-514 или 515-517).

161. Выделенное антитело по п. 160, где антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL легкой цепи (VL), содержащей или состоящей из SEQ ID NO: 464, 471, 493 или 479 (например, SEQ ID No: 500-502).

162. Выделенное антитело по п. 160 или 161, где антитело содержит VH, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 или 492, с сигнальным пептидом или без него.

163. Выделенное антитело по любому из пп. 160-162, где антитело содержит VL, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 464, 471, 479 или 493, с сигнальным пептидом или без него.

164. Выделенное антитело по любому из пп. 160-163, содержащее константную область тяжелой цепи, содержащую или состоящую из IgG1 дикого типа (например, SEQ ID NO: 182), IgG2 дикого типа, IgG3 дикого типа, IgG4 дикого типа, IgG4 дикого типа, содержащего S228P, IgG1.1 (SEQ ID NO: 183), IgG1.3 (SEQ ID NO: 163), IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184), с С-концевым лизином или без него.

165. Выделенное антитело по любому из пп. 160-164, содержащее тяжелую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 475, 476, 491, 480 или 481, с сигнальным пептидом или без него.

166. Выделенное антитело по любому из пп. 160-165, содержащее легкую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 472, 494 или 482, с сигнальным пептидом или без него.

167. Выделенное антитело по п. 166, содержащее тяжелую и легкую цепи, содержащие или состоящие из:

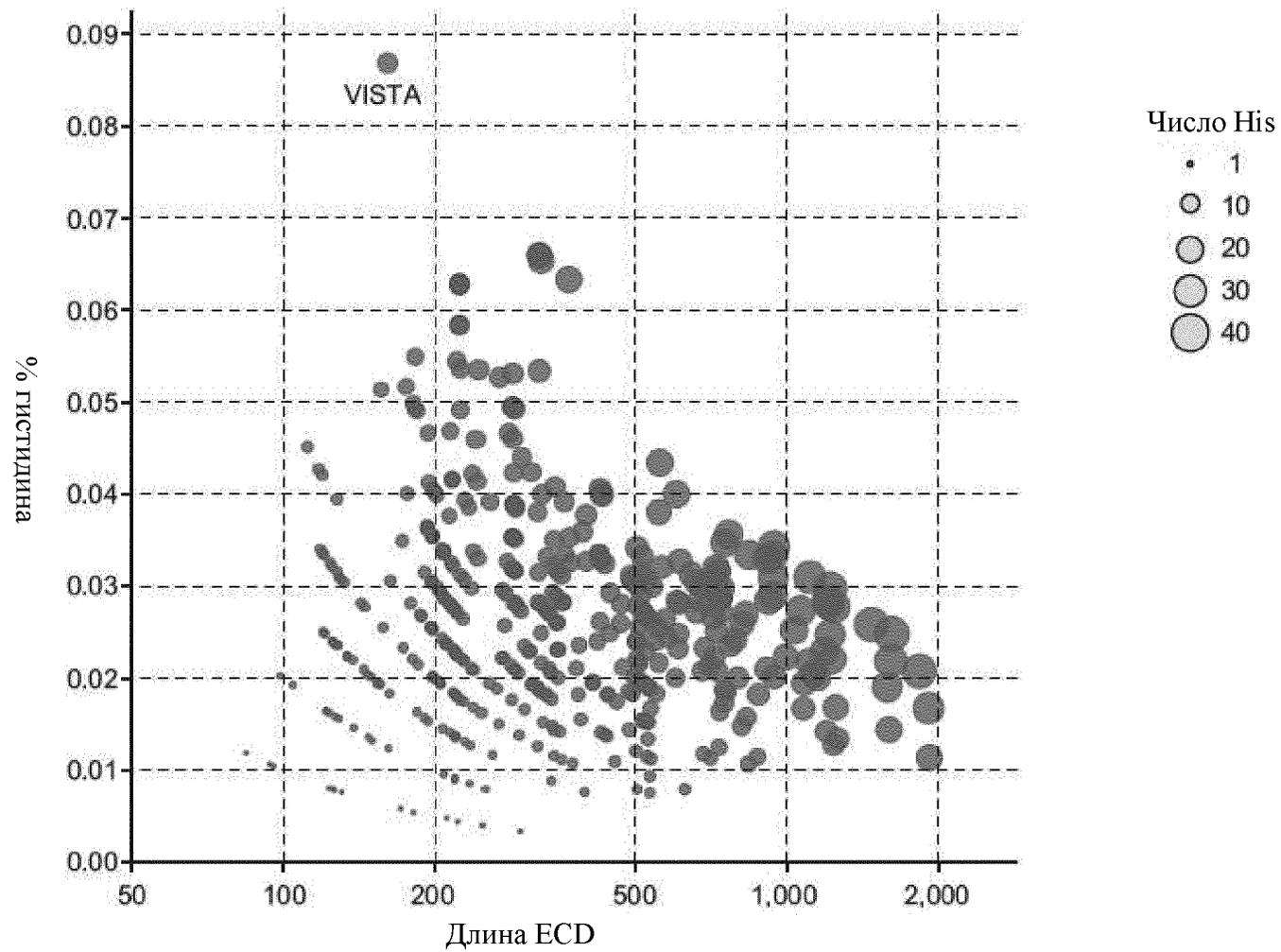
- (a) SEQ ID NO: 475 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (b) SEQ ID NO: 475 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (c) SEQ ID NO: 476 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (d) SEQ ID NO: 476 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (e) SEQ ID NO: 491 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (f) SEQ ID NO: 491 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (g) SEQ ID NO: 480 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно;
- (h) SEQ ID NO: 480 и SEQ ID NO: 494, соответственно;
- (i) SEQ ID NO: 481 и SEQ ID NO: 482 или 472, соответственно; или
- (j) SEQ ID NO: 481 и SEQ ID NO: 494, соответственно.

168. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, который, например, приводит к увеличению количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, например, в опухоли субъекта.

169. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, который, например, приводит к снижению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта.

170. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту антитела, которое специфически связывается с hVISTA и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, который, например, приводит к увеличению количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, например, в опухоли субъекта, и уменьшению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта, и/или другим отличительными свойствами, описанным в настоящем документе.

171. Способ по любому из пп. 168-170, где антитело, которое специфически связывается с hVISTA, представляет собой антитело, описанное в настоящем документе.



ФИГ. 1А

Hu/Cy/Ms консервативные гистидины (жирный шрифт, подчеркнутые)

Hu/Cy – консервативные гистидины (жирный шрифт)

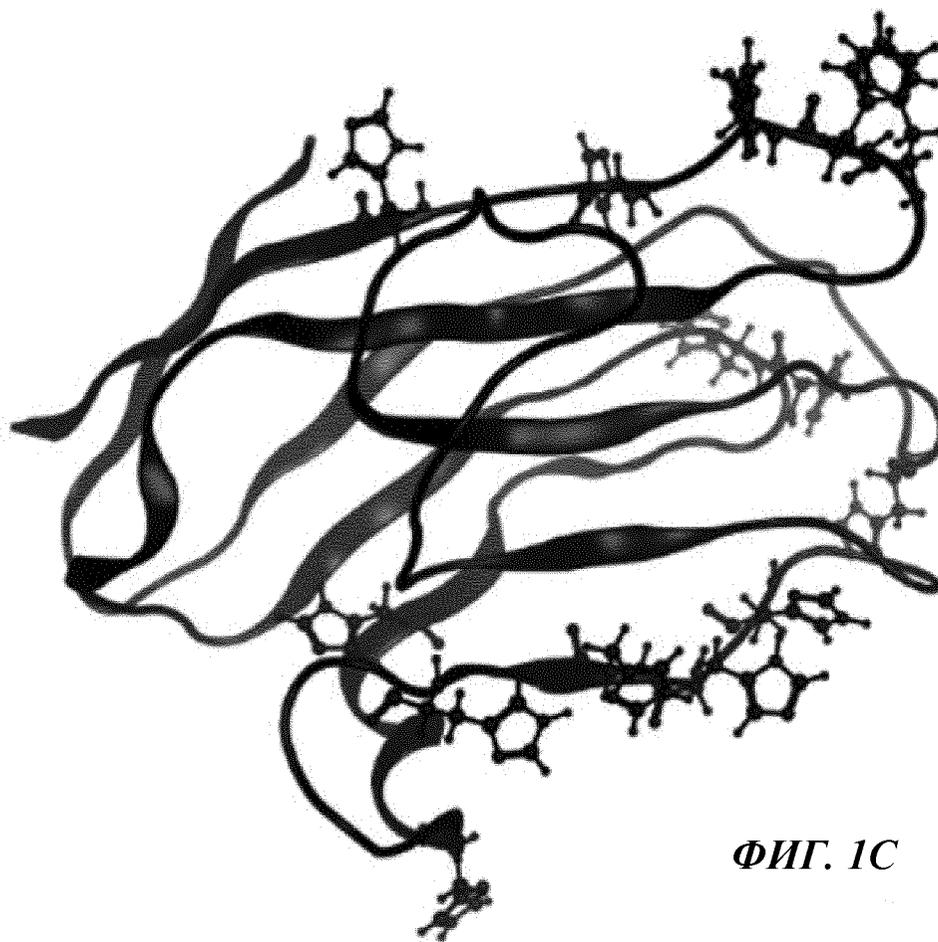
```
Human NP_071436.1 Sig- FKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGHDVTFYKTWYR
Cyno XP_005565644.1 Sig- FKVATLYSLYVCPEGQNVTLTCRVFGPVDKGHDVTFYKTWYR
Mouse NP_083008.1 Sig- FKVTTTPYSLYVCPEGQNTLTCRILGPVSKGHDVTIYKTWYL

Human NP_071436.1 SSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDLHLHHGGHQAANTSSHDLAQRHGLES
Cyno XP_005565644.1 SSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDLHLHHGGHQAANTSSHDLAQRHGLES
Mouse NP_083008.1 SSRGEVQMCKEHRPIRNFTLQHLQ-HHGSHLKANASHDQPQKHGLEL

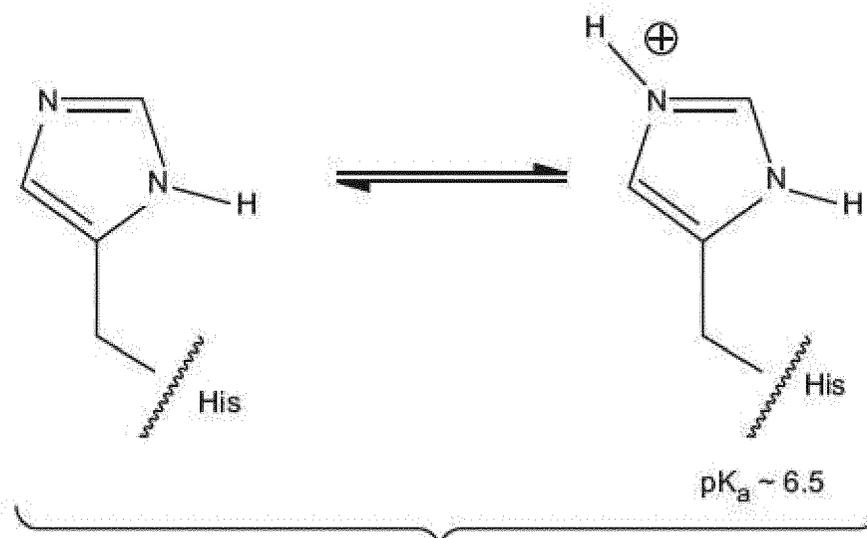
Human NP_071436.1 ASDHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVHGAMELQV
Cyno XP_005565644.1 ASDHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVHGAMELQV
Mouse NP_083008.1 ASDHHGNFSITLRNVTPRDSGLYCCLVIELKNHHPEQRFYGSMELQV

Human NP_071436.1 QTGKDAPSNCVVPSSSQDSENITAA -TMD
Cyno XP_005565644.1 QTGKDAPSSCVAYPSSSQESENITAA -TMD
Mouse NP_083008.1 QAGKGSSTCMA--SNEQDSDSITAA -TMD
```

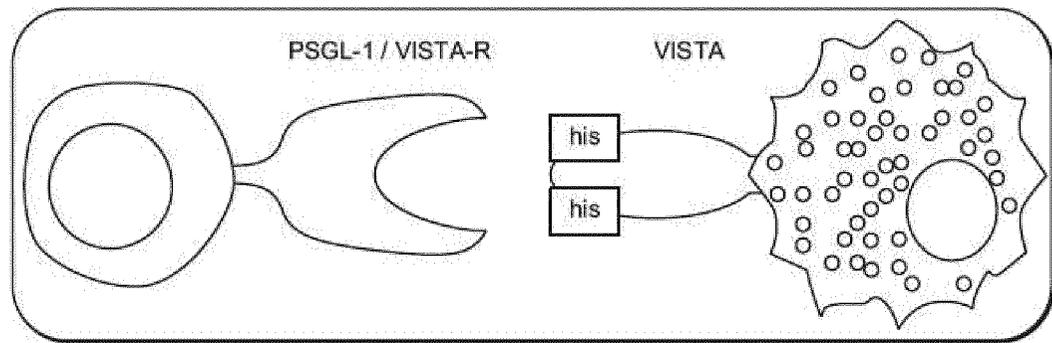
ФИГ. 1В



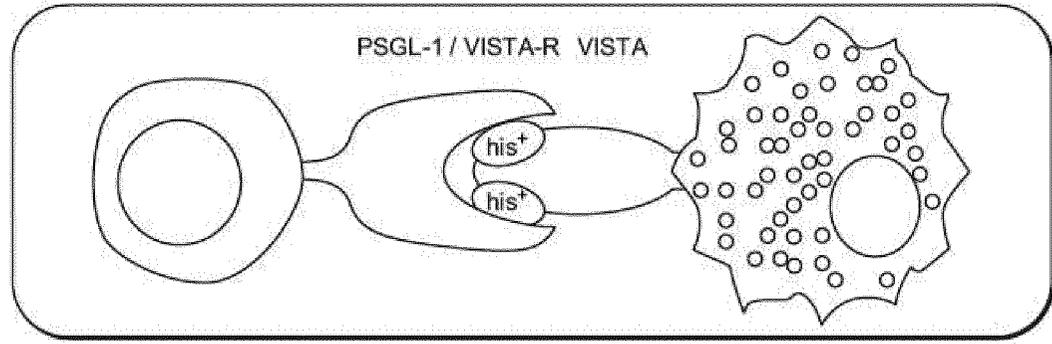
ФИГ. 1С



ФИГ. 2А

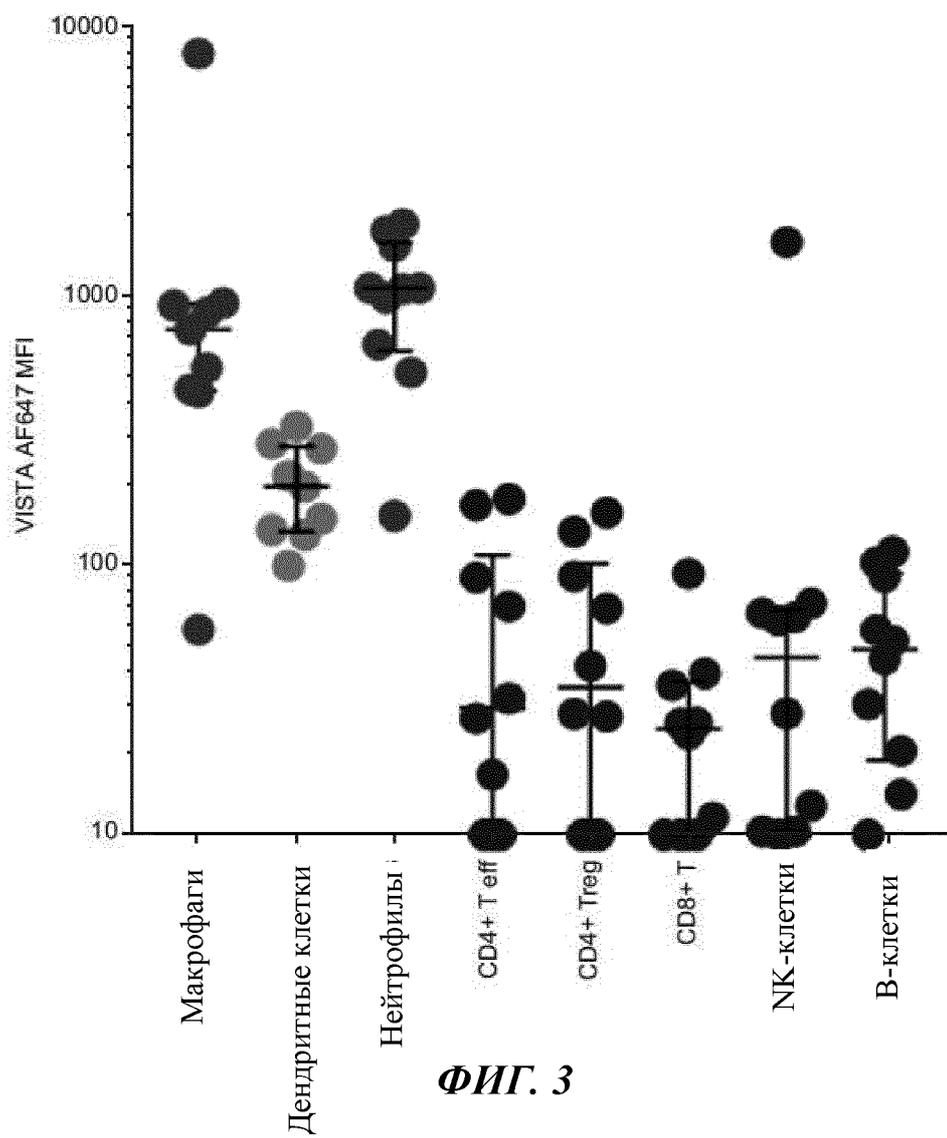


Физиологический рН
(~7,4)



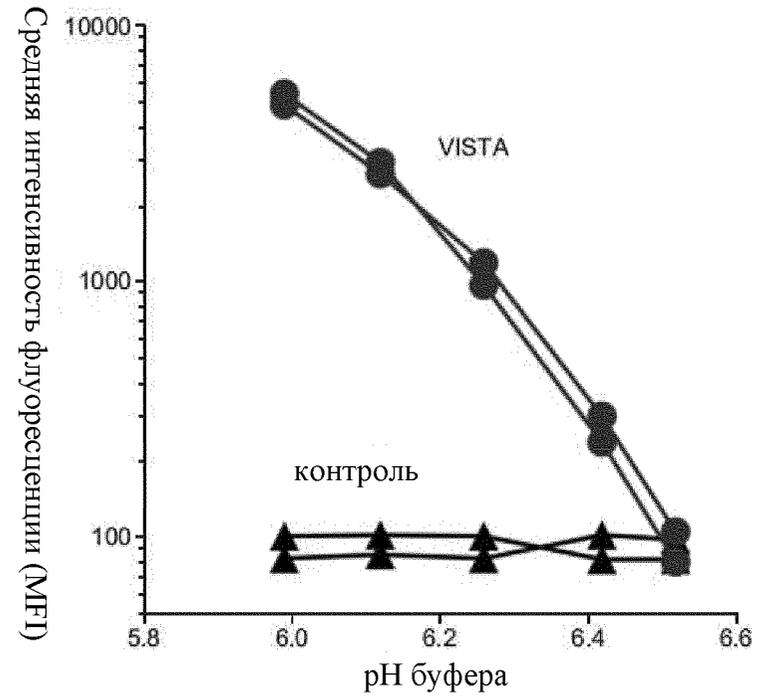
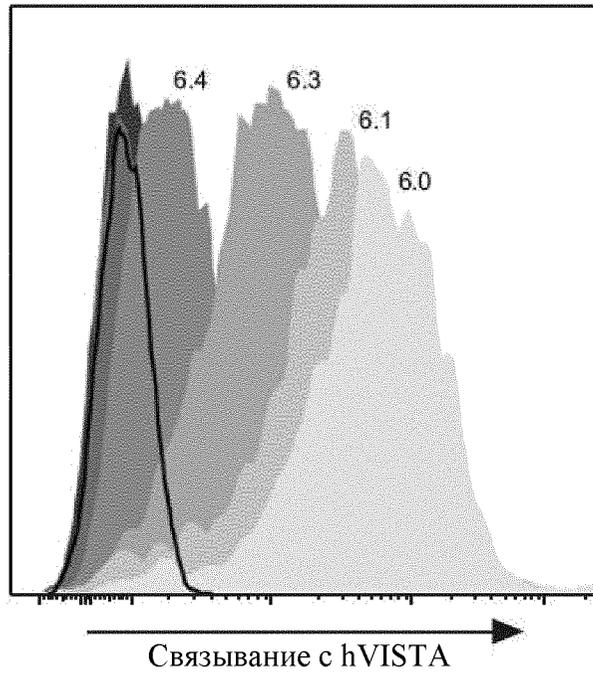
Кислый рН
(микроокружение
опухоли или другая
воспаленная ткань)

ФИГ. 2В

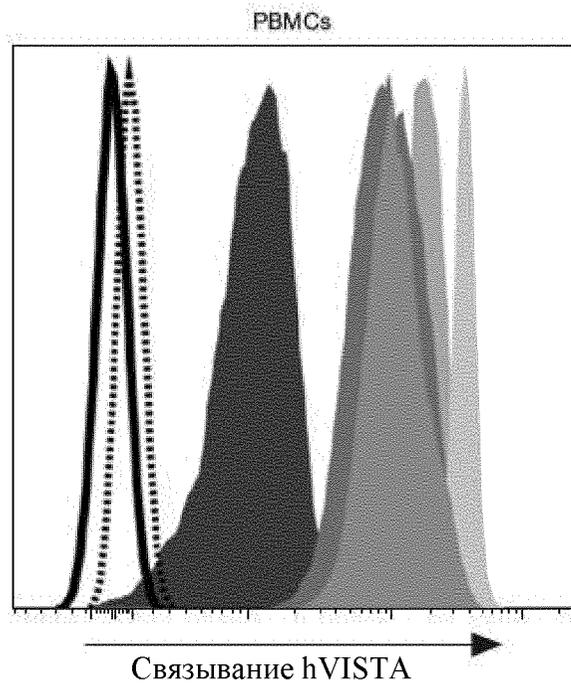


ФИГ. 3

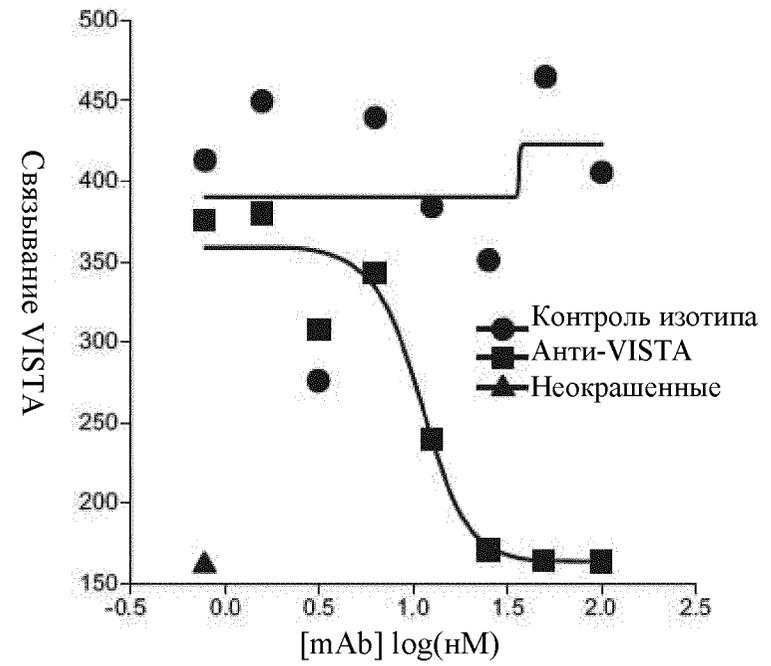
Активированные РВМС CD4+ Т-клетки



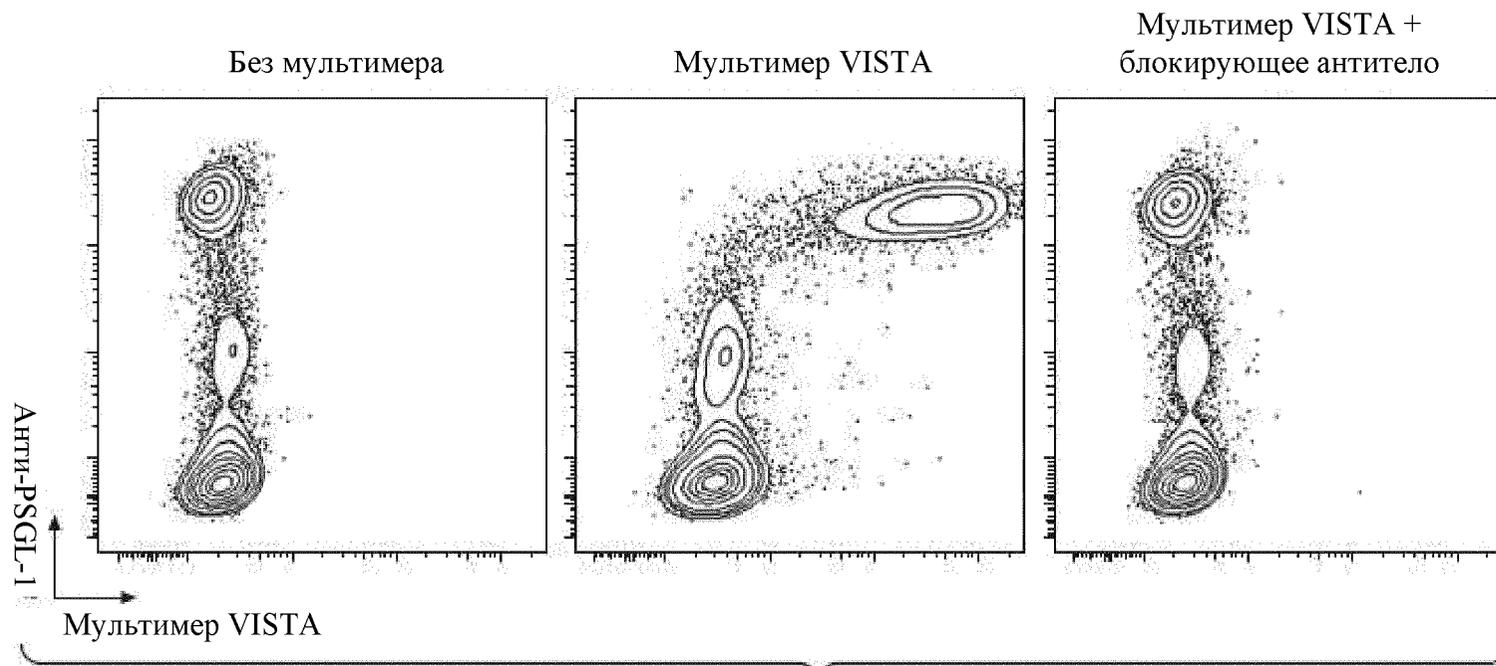
ФИГ. 4А



ФИГ. 4В

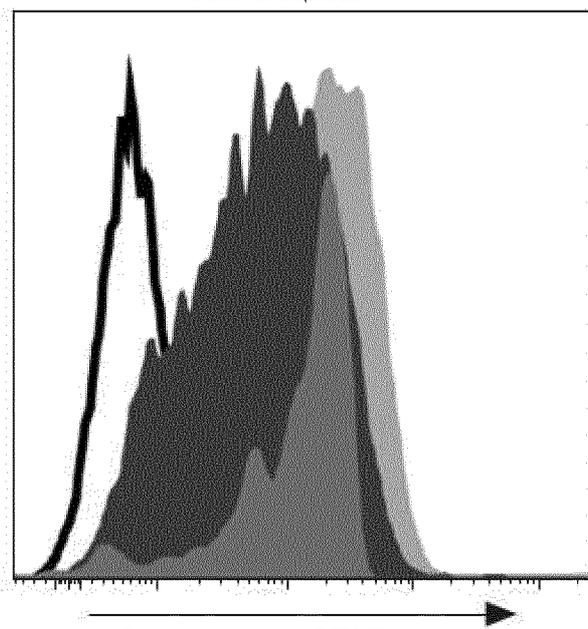


ФИГ. 4С



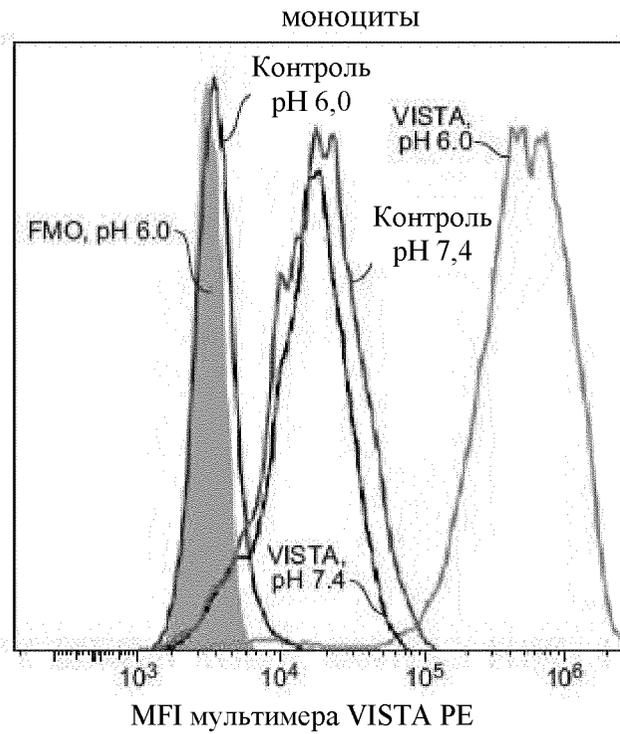
ФИГ. 4D

Спленоциты

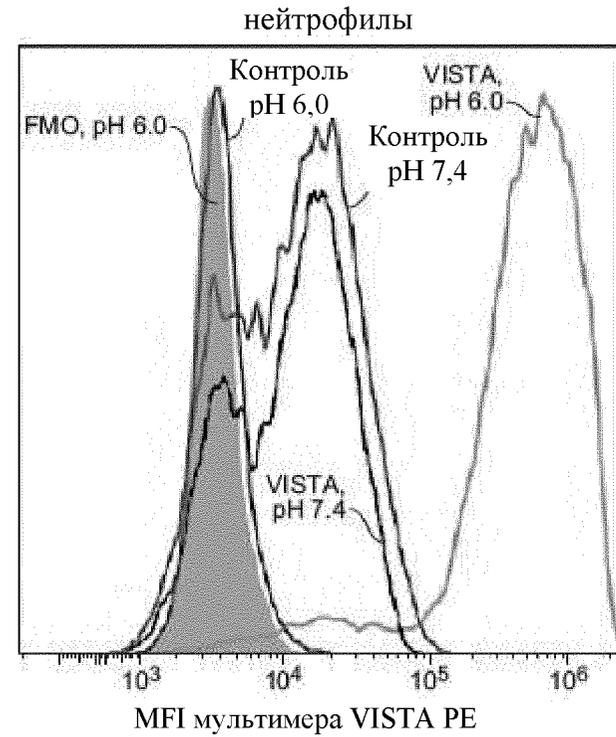


Связывание mVISTA

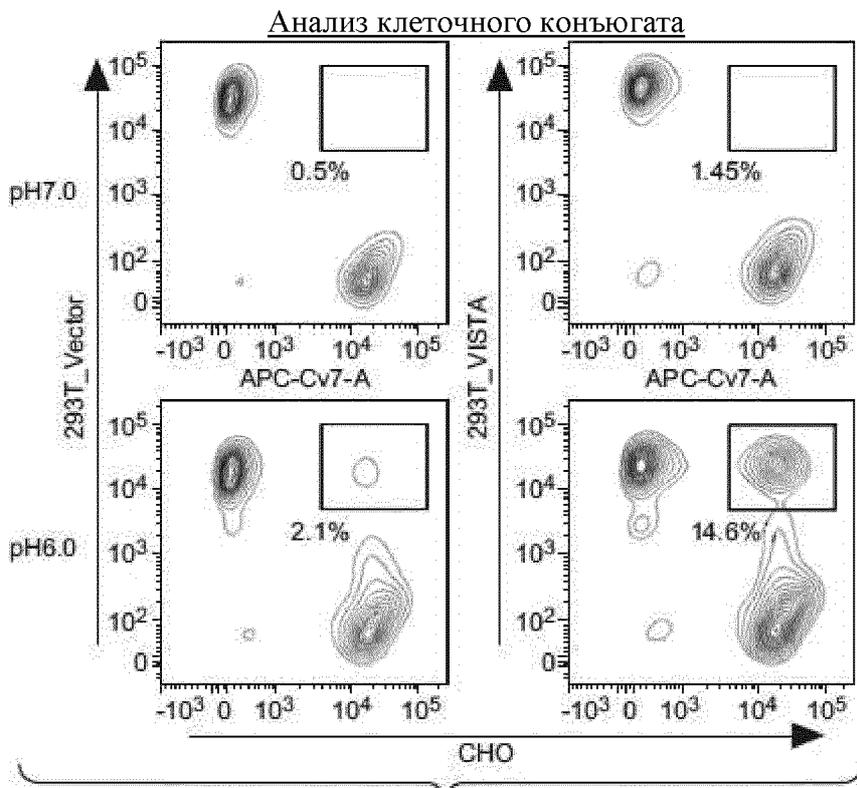
ФИГ. 4E



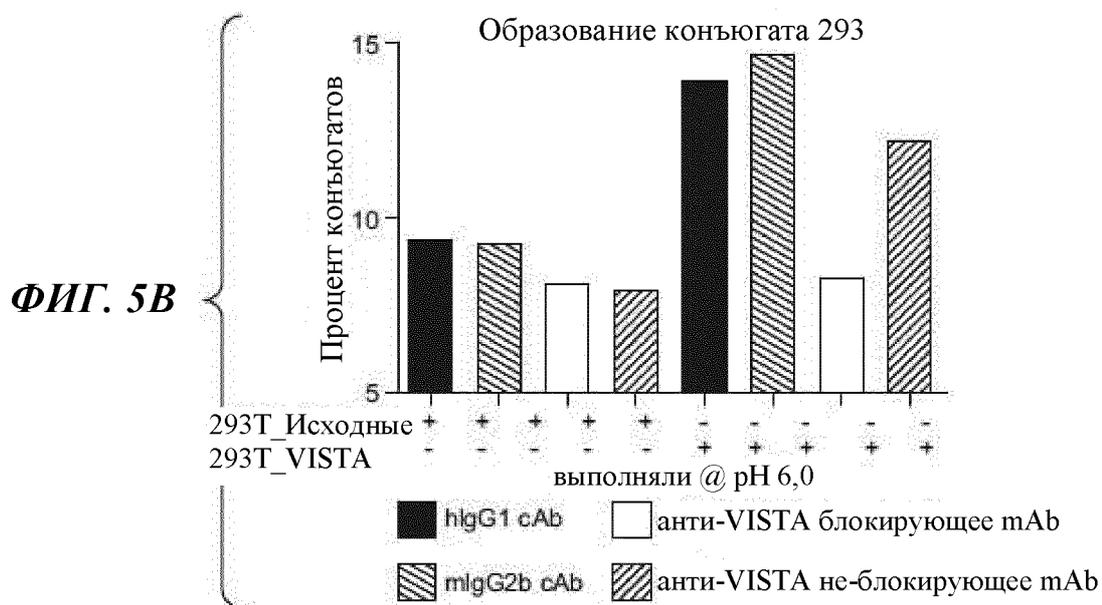
ФИГ. 4F



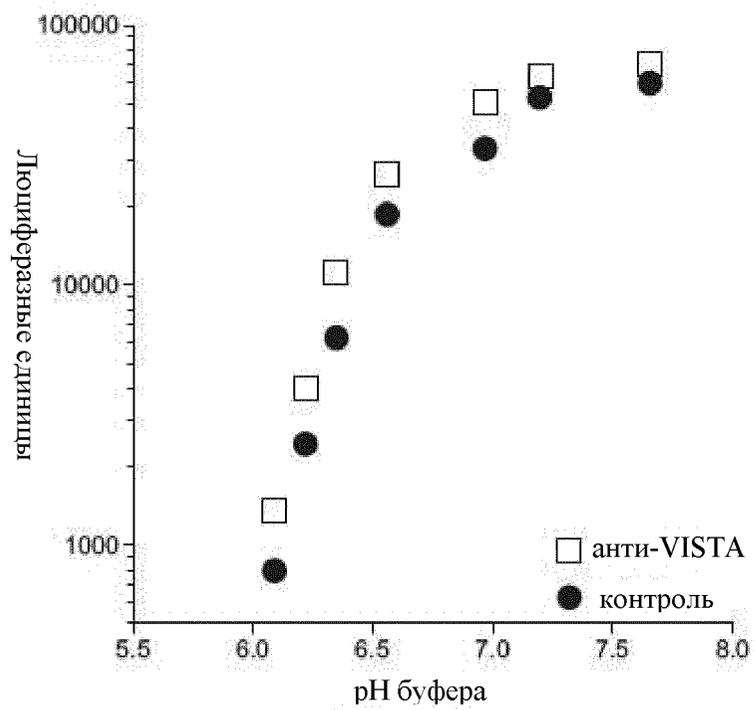
ФИГ. 4G



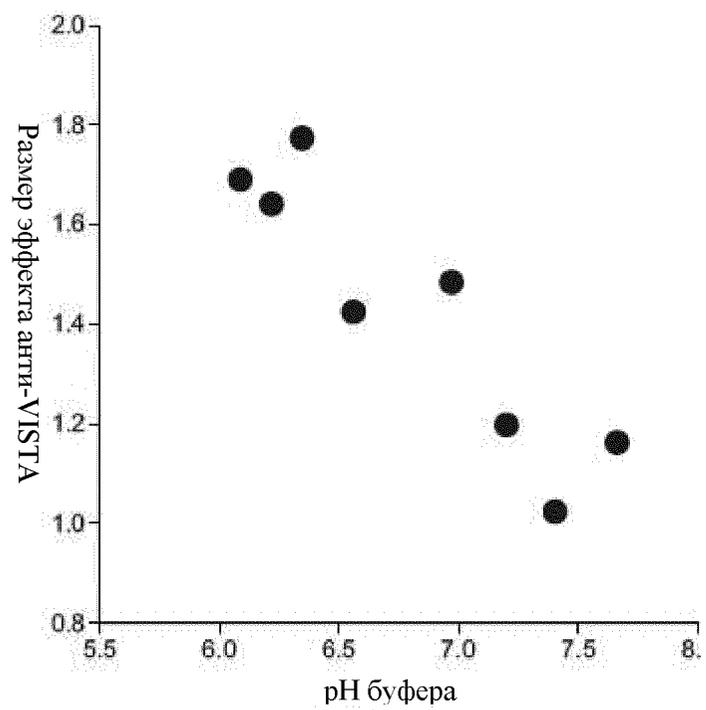
ФИГ. 5А



ФИГ. 5В

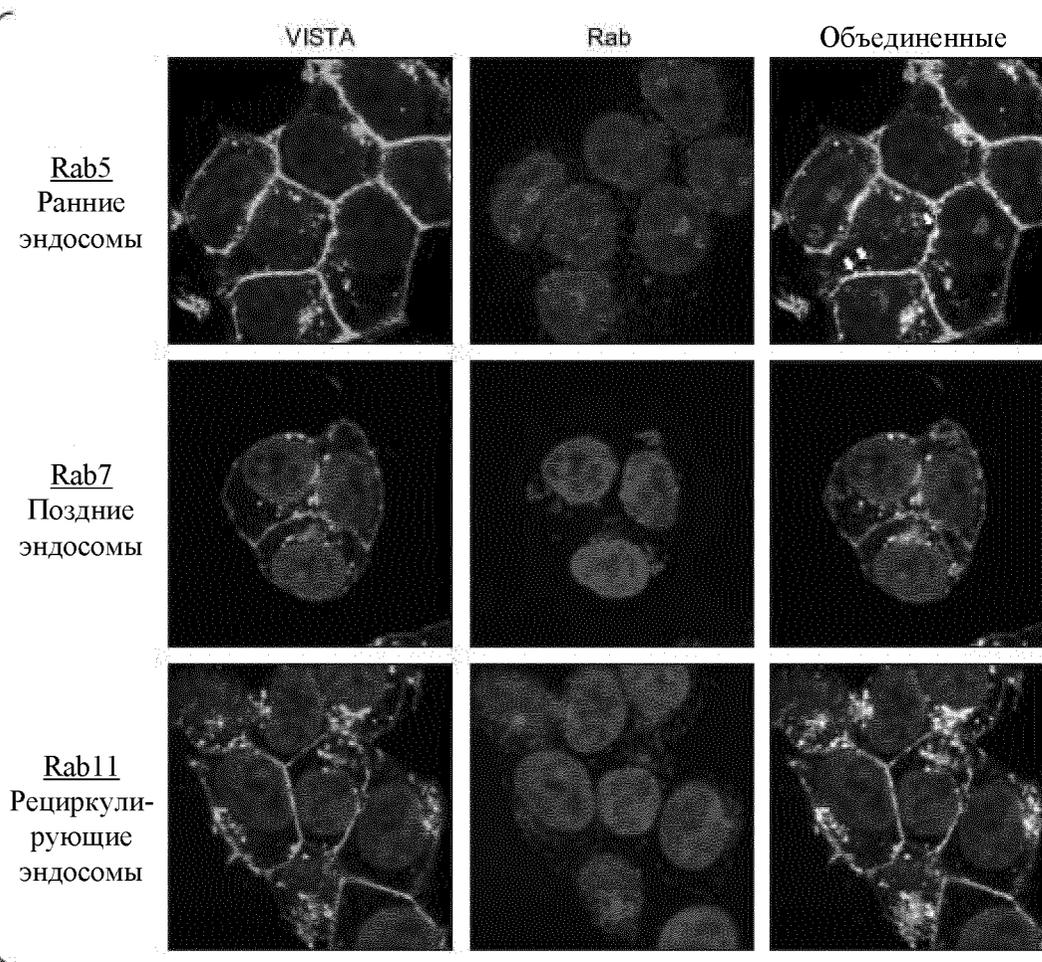


ФИГ. 5С

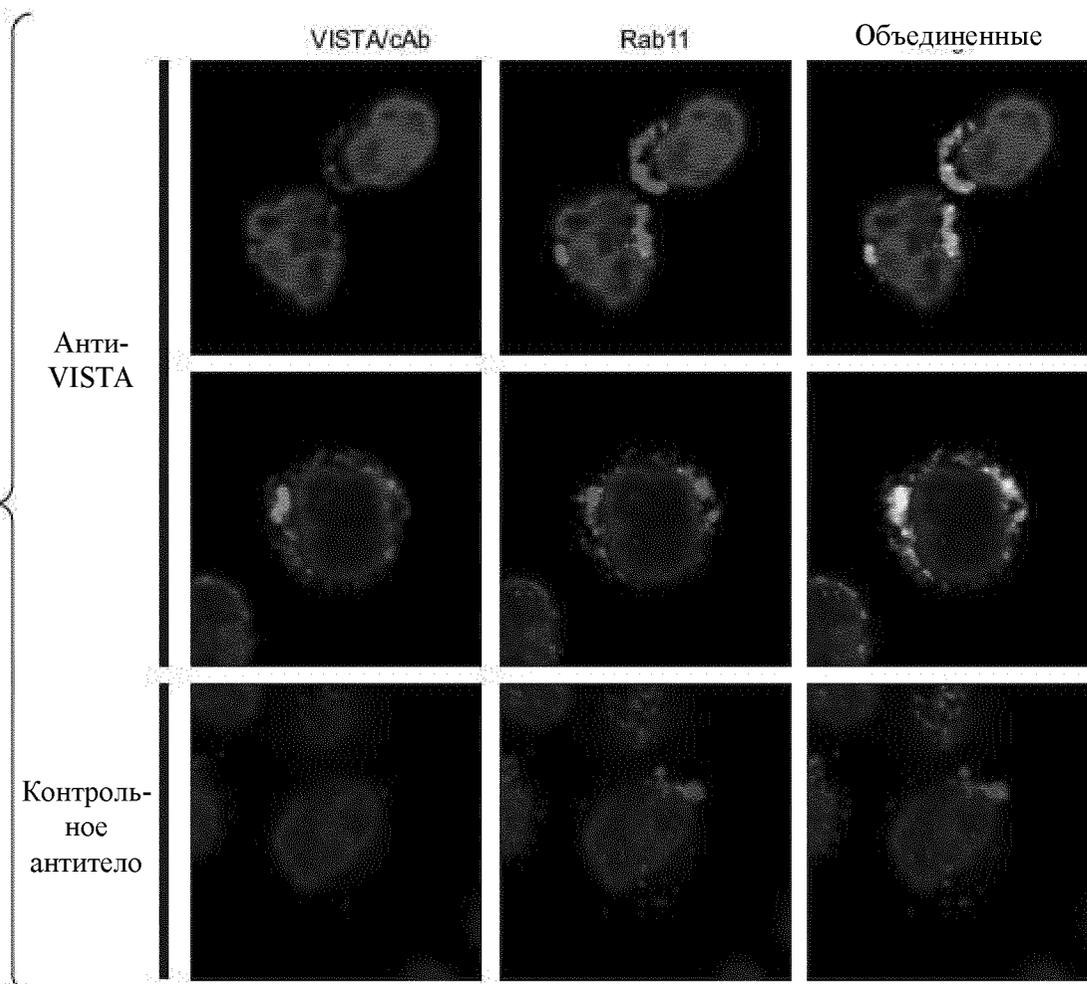


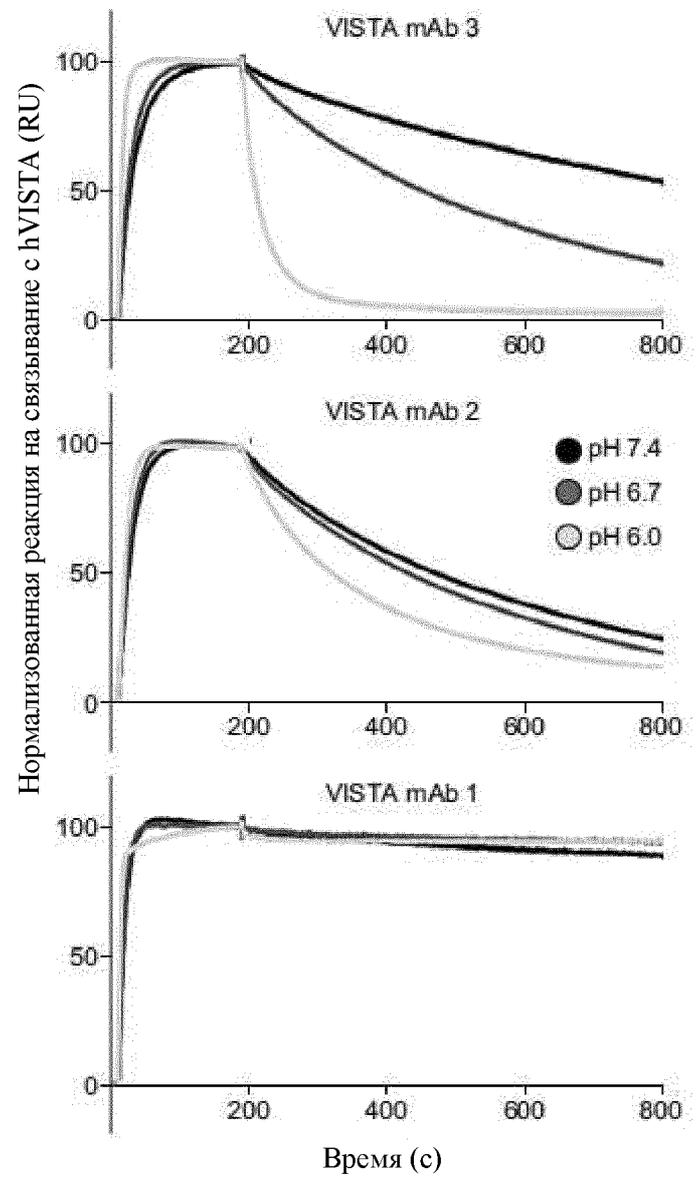
ФИГ. 5D

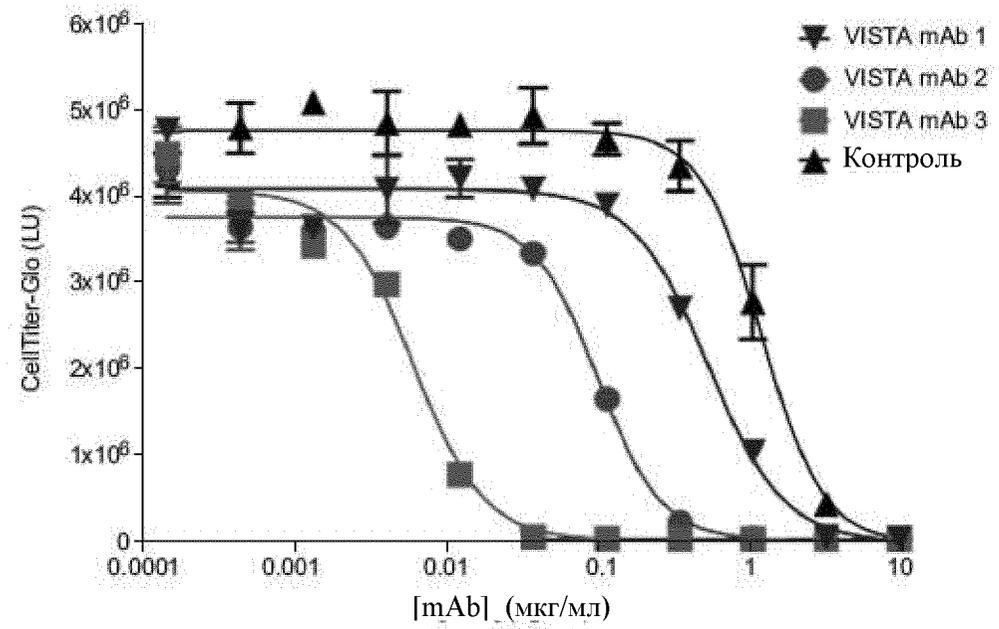
ФИГ. 6А



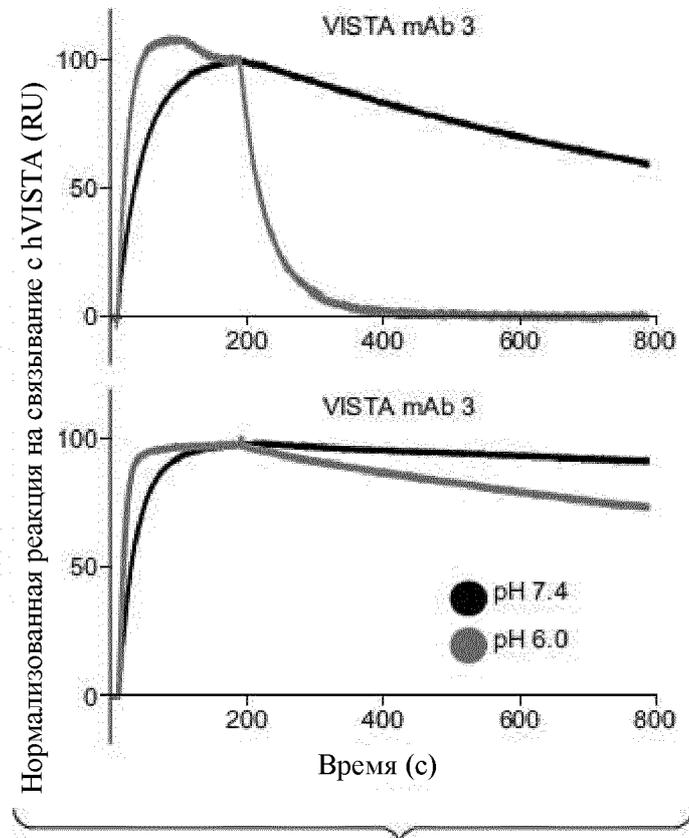
ФИГ. 6В

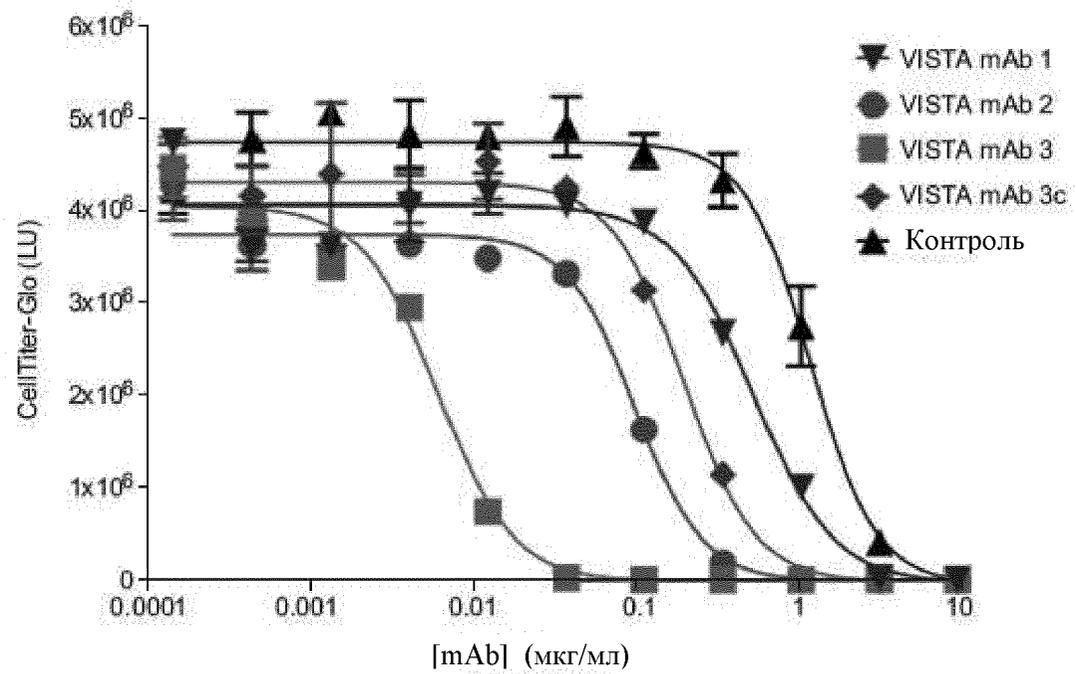


**ФИГ. 6С**

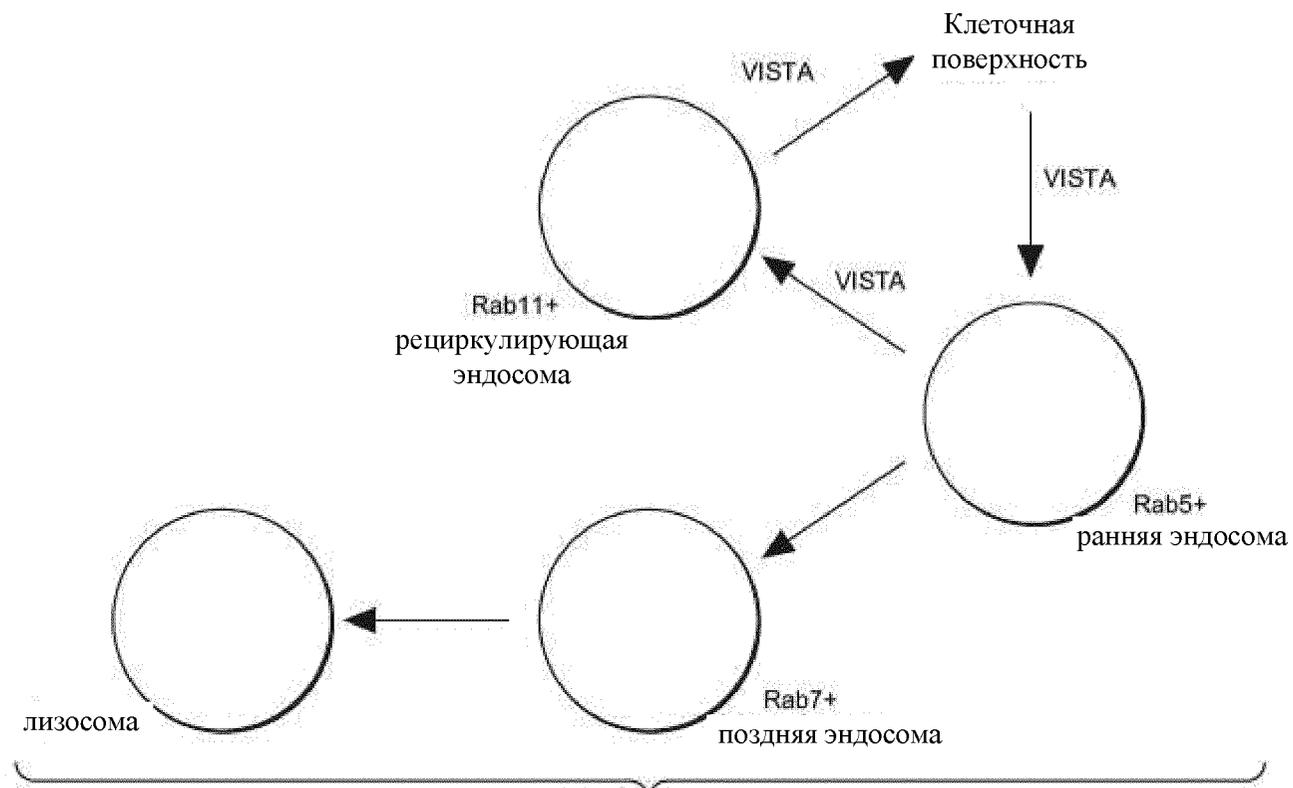


ФИГ. 6D

**ФИГ. 6Е**



ФИГ. 6F

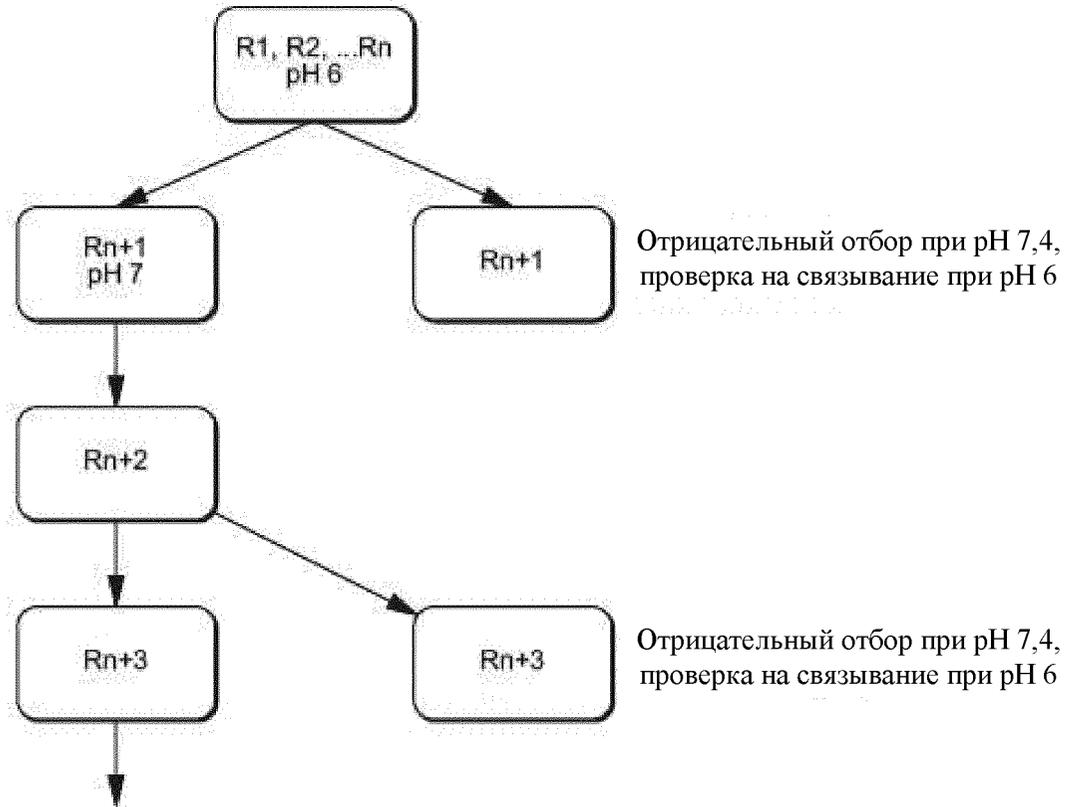


P1-061029
HCDR3 chip
oligos

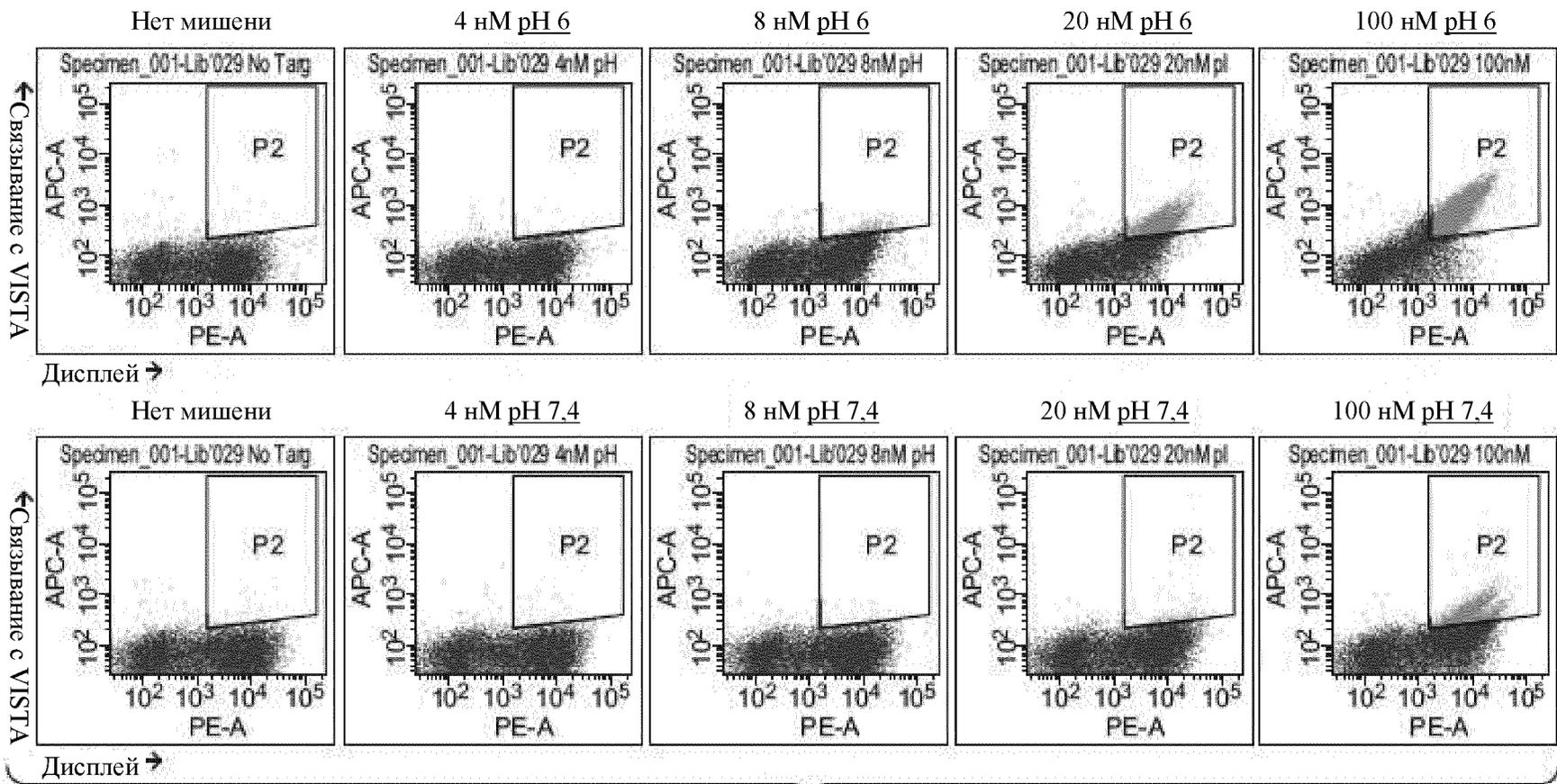
XPGYSSGGWIDAFDV	EPGYSSGGWIDAFDV	HPGYSSGGWIDAFDV	DPGYSSGGWIDAFDV
XXGYSSGGWIDAFDV	[EDGYSSGGWIDAFDV]	[HDGYSSGGWIDAFDV]	[DDGYSSGGWIDAFDV]
XPXYSSGGWIDAFDV	EPDYSSGGWIDAFDV	HPDYSSGGWIDAFDV	DPDYSSGGWIDAFDV
XPGXSSGGWIDAFDV	EPGDSSGGWIDAFDV	HPGDSSGGWIDAFDV	DPGDSSGGWIDAFDV
XPGYXGGWIDAFDV	[EPGYDGGWIDAFDV]	[HPGYDGGWIDAFDV]	[DPGYDGGWIDAFDV]
XPGYSXGWIDAFDV	[EPGYSDGWIDAFDV]	[HPGYSDGWIDAFDV]	[DPGYSDGWIDAFDV]
XPGYSGXWIDAFDV	EPGYSGDWIDAFDV	HPGYSGDWIDAFDV	DPGYSGDWIDAFDV
XPGYSSGXIDAFDV	EPGYSSGDIDAFDV	HPGYSSGDIIDAFDV	DPGYSSGDIIDAFDV
XPGYSSGWXDAFDV	EPGYSSGNDDAFDV	HPGYSSGNDDAFDV	DPGYSSGNDDAFDV
XPGYSSGWIAXFDV	EPGYSSGWIDAFDV	HPGYSSGWIDAFDV	DPGYSSGWIDAFDV
XPGYSSGWIAXFDV	EPGYSSGWIDDFDV	HPGYSSGWIDDFDV	DPGYSSGWIDDFDV
XPGYSSGWIAXDV	EPGYSSGWIDADDV	HPGYSSGWIDADDV	DPGYSSGWIDADDV
XPGYSSGWIAXFV	EPGYSSGWIDAFDV	HPGYSSGWIDAFDV	DPGYSSGWIDAFDV
XPGYSSGWIAXDX	EPGYSSGWIDAFDD	HPGYSSGWIDAFDD	DPGYSSGWIDAFDD

1. X = H, D или E
2. Последовательности в скобках были удалены из синтеза для избежания введения отрицательных особенностей
3. Синтезировано всего 647 уникальных последовательностей P1-061029 HCDR3 с 1-2 мутациями

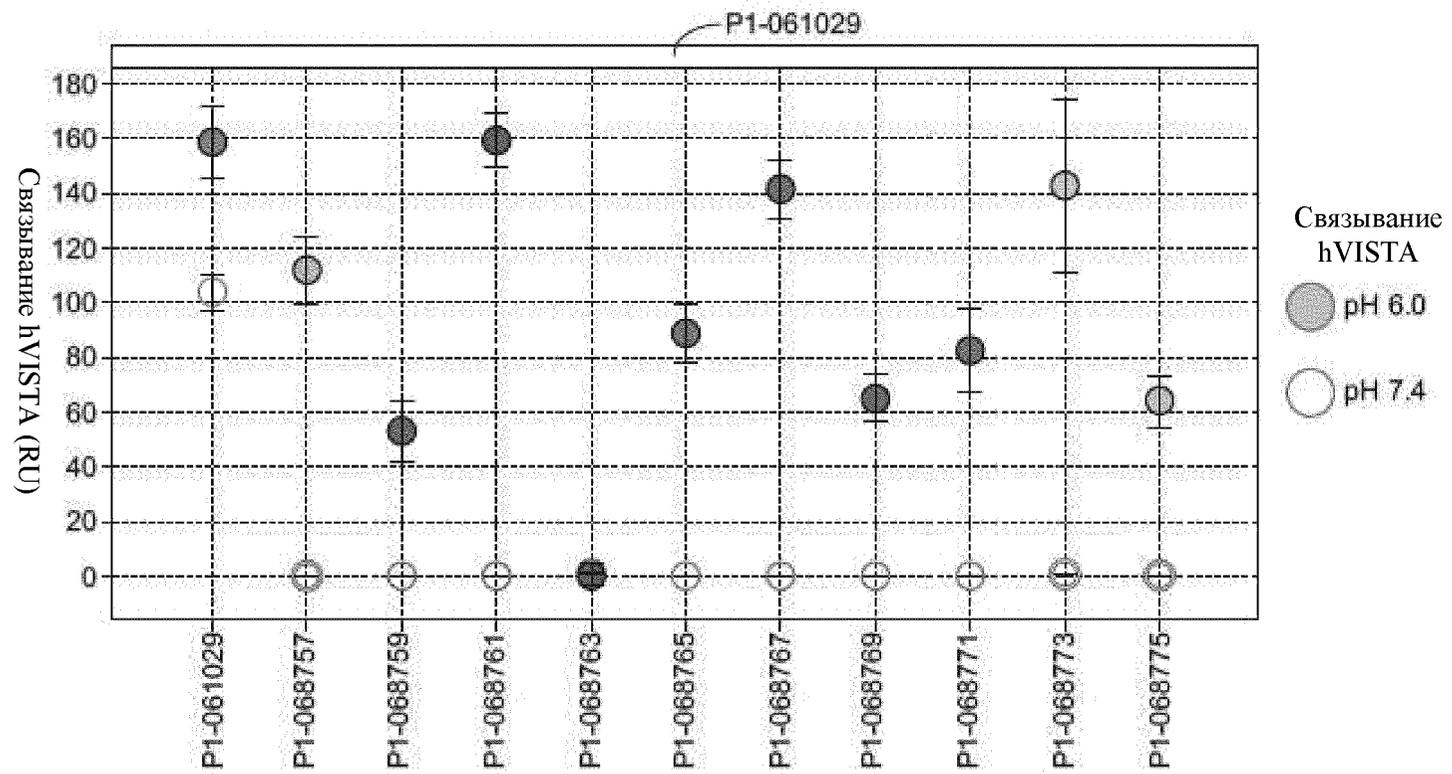
ФИГ. 7А



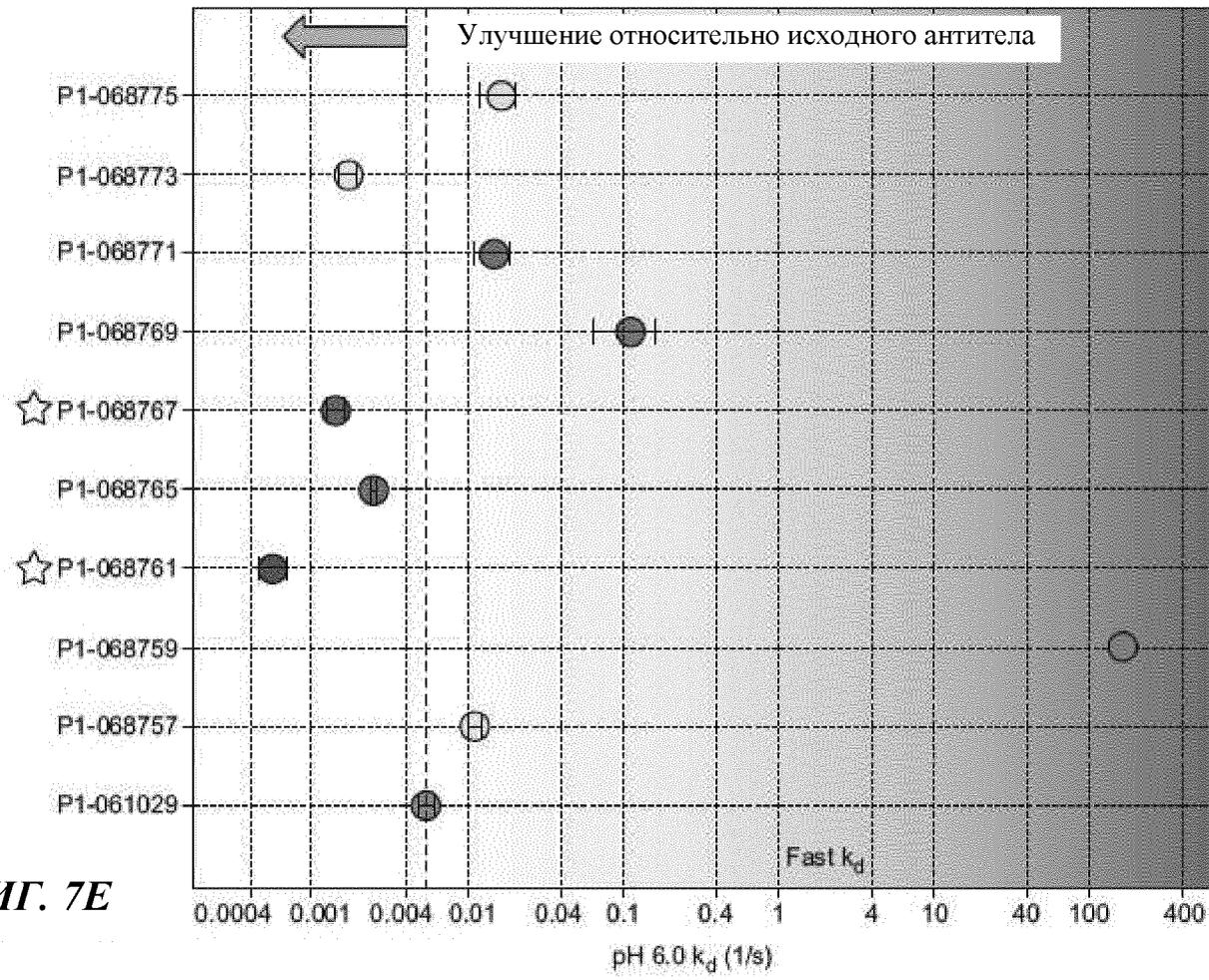
ФИГ. 7В



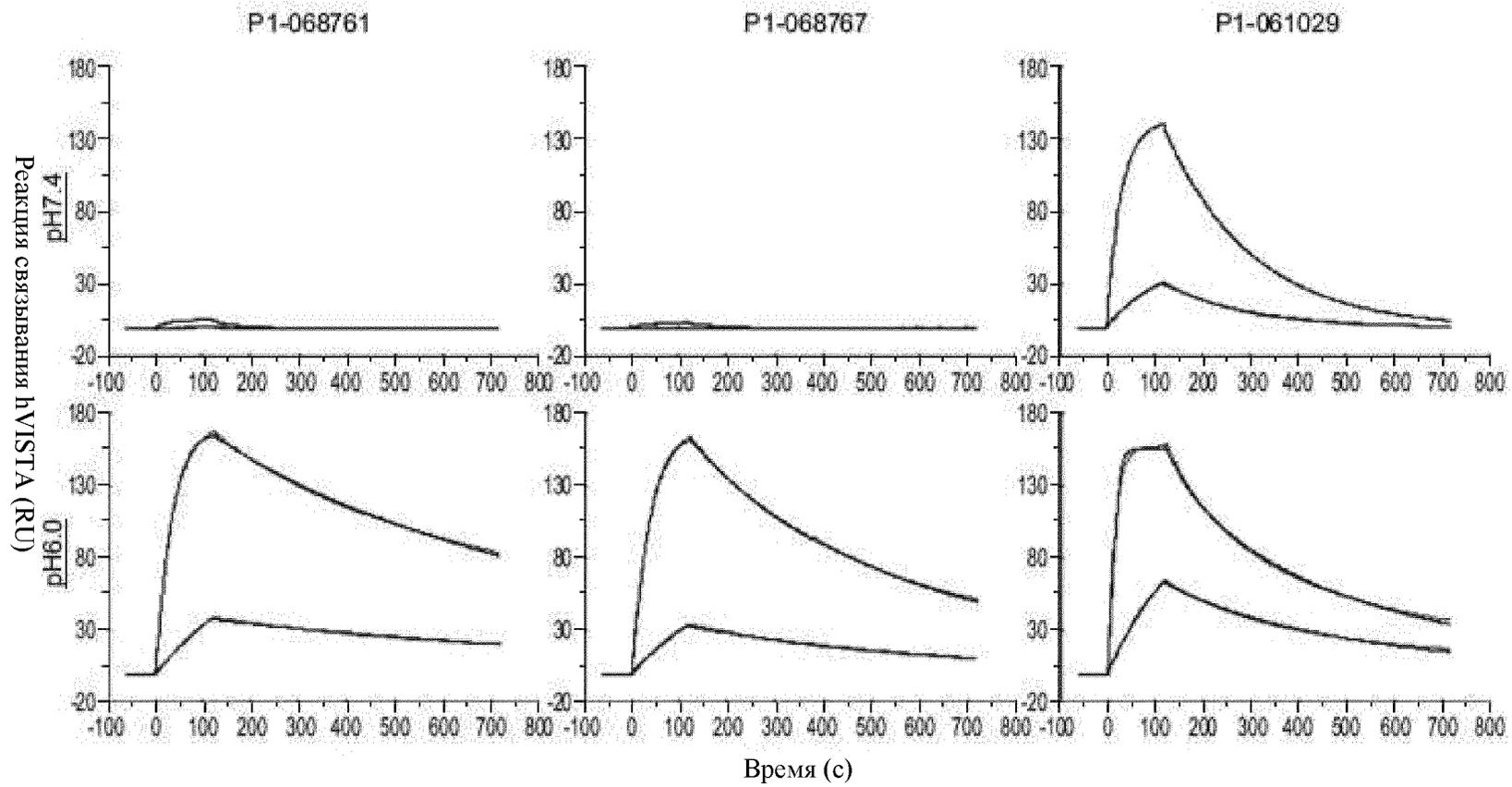
ФИГ. 7С



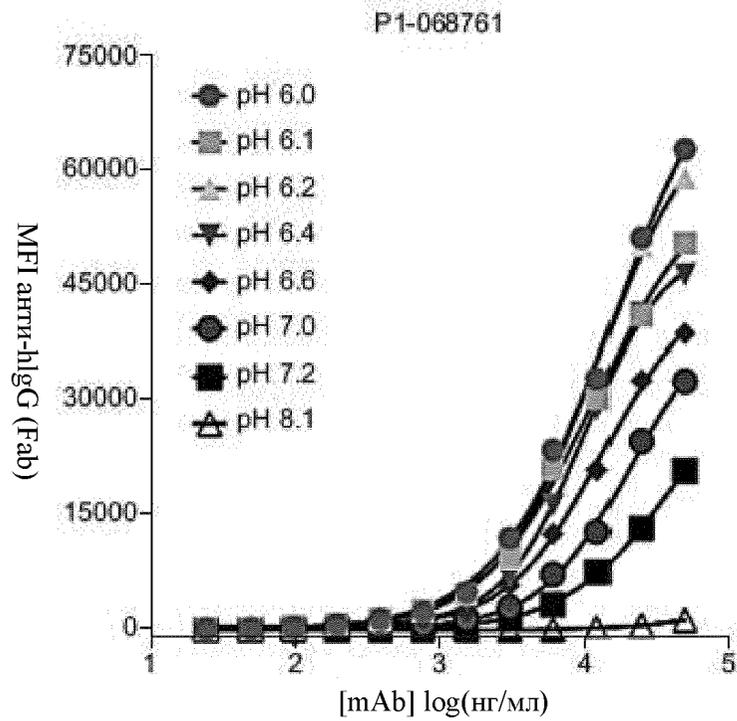
ФИГ. 7D



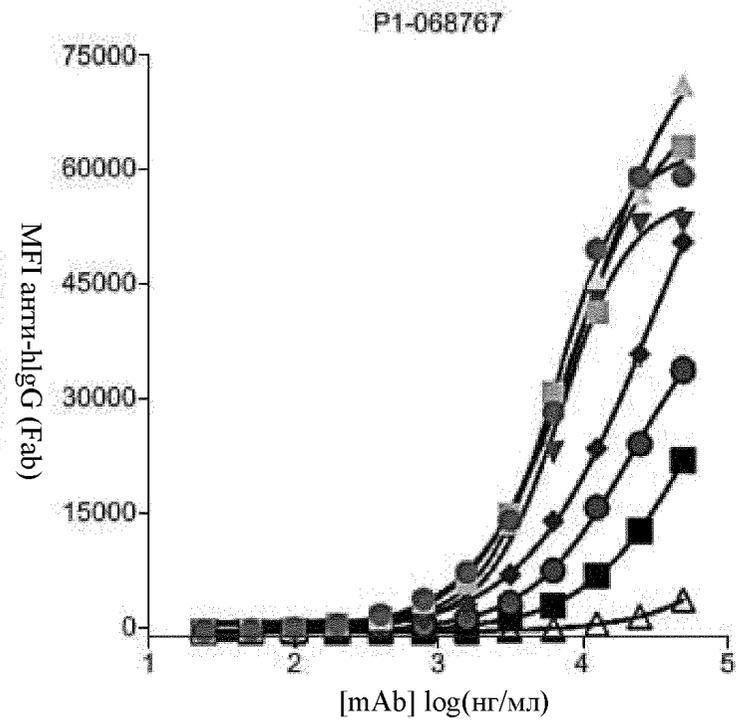
ФИГ. 7E



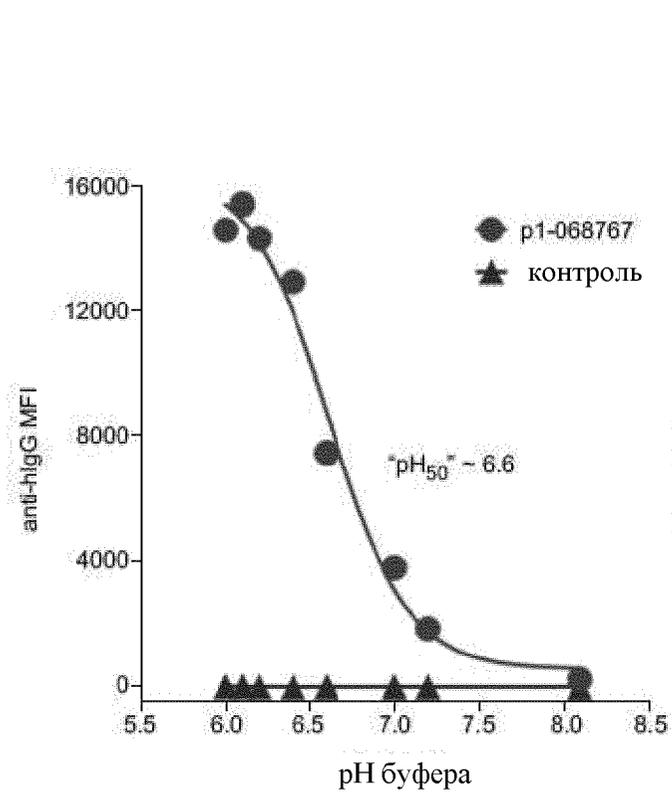
ФИГ. 7F



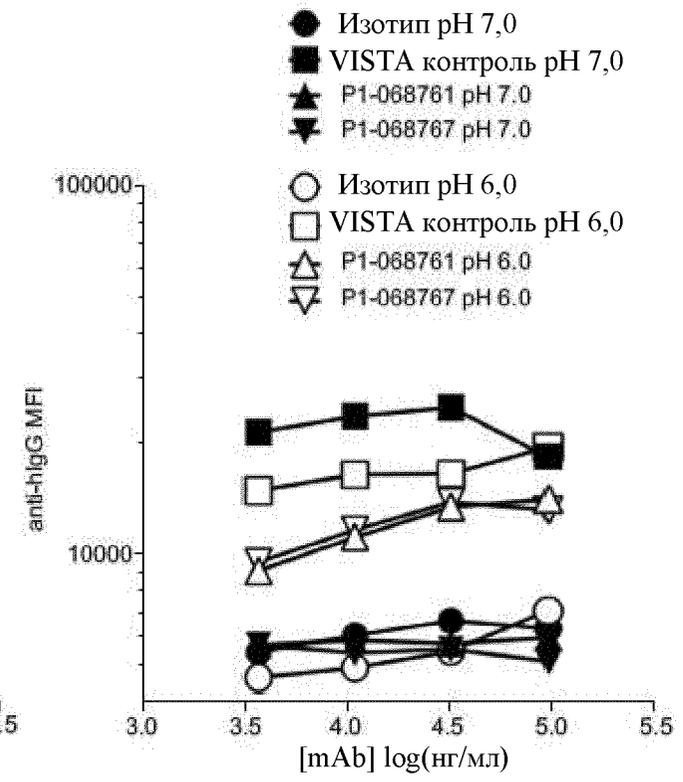
ФИГ. 8А



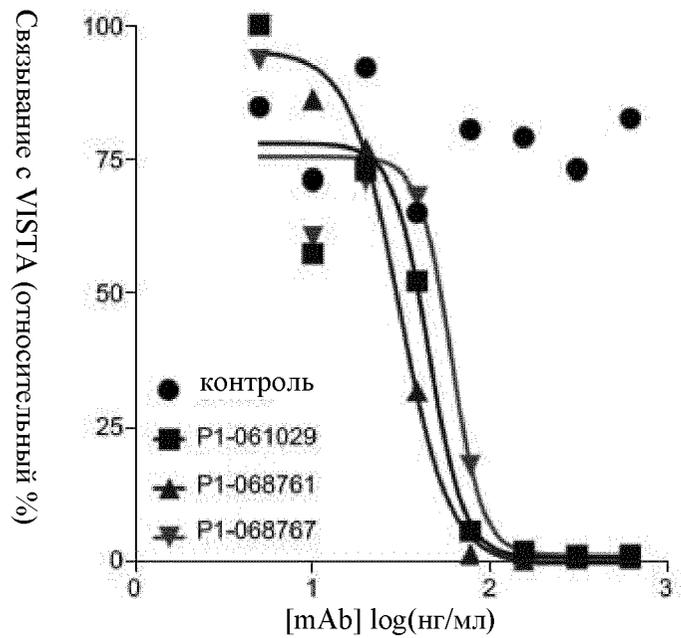
ФИГ. 8В



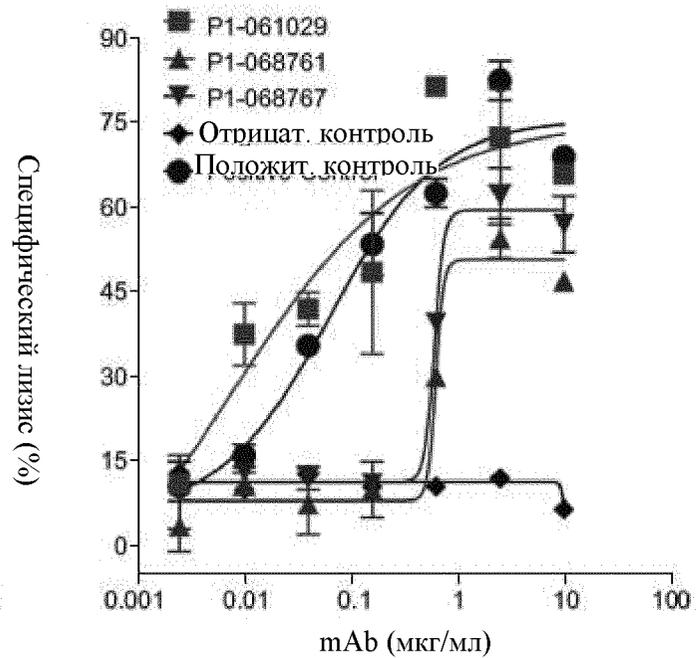
ФИГ. 8С



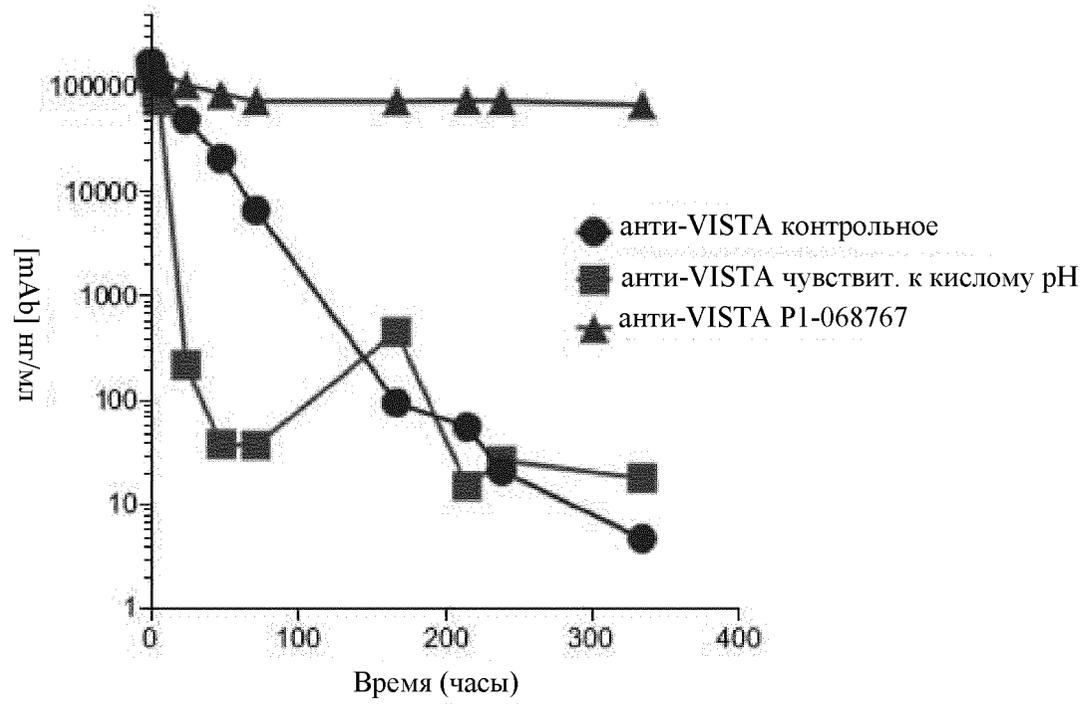
ФИГ. 8D



ФИГ. 8E



ФИГ. 8F



ФИГ. 9

Антитело	PI ID	pH 7.4			pH 6.7			pH 6.0			HCDR1	HCDR2	HCDR3
		kd (1/s)	KD (M)	WVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	WVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	WVISTA %Rmax			
P1-068761_E100F	P1-070874	1.3E-03	2.0E-08	733	2.2E-04	1.3E-09	117.0	1.3E-04	1.9E-10	130.1E.E...EE.....H.....
P1-068761_E55A_E100F	P1-070898	1.7E-03	1.4E-08	823	2.8E-04	1.5E-09	119.8	1.8E-04	2.6E-10	133.7E.E...E.....H.....
P1-068761_H100G_E100F	P1-070880	2.3E-03	4.1E-08	61.8	4.0E-04	2.3E-09	116.7	2.1E-04	2.3E-10	126.7E.E...EE.....H.....
P1-068761_E30D_E100F	P1-070896	3.5E-03	4.8E-08	65.2	5.7E-04	3.7E-09	112.6	3.3E-04	4.3E-10	130.4E.E...EE.....H.....
P1-068761_E56N_E100F	P1-070902	3.0E-03	6.5E-08	47.4	6.1E-04	6.5E-09	85.9	3.8E-04	1.4E-09	116.5E.E...E.....H.....
P1-068761_E32Y	P1-070866	2.5E-03	1.8E-08	102.5	6.4E-04	1.6E-09	120.9	4.1E-04	2.1E-10	123.1E.....EE.....H.....E..
P1-068761_E32Y_E55A	P1-070882	2.7E-03	2.3E-08	89.3	6.0E-04	2.0E-09	116.3	5.7E-04	3.1E-10	117.6E.....E.....H.....E..
P1-068761_E32Y_E56N	P1-070884	3.2E-03	4.2E-08	73.7	8.3E-04	5.1E-09	104.4	7.0E-04	1.2E-09	115.8E.....E.....H.....E..
P1-068761_E30D_E32Y	P1-070876	3.5E-03	2.1E-08	110.8	9.9E-04	2.0E-09	124.0	7.1E-04	2.4E-10	124.9EE.....H.....E..
P1-068761_E32Y_H100G	P1-070886	5.5E-03	7.2E-08	68.0	1.3E-03	5.0E-09	113.4	9.2E-04	4.8E-10	120.4E.....EE.....E.....
P1-068761_E32Y_E100F	P1-070888	1.9E-03	3.7E-08	132.1	9.5E-04	1.1E-09	125.0	1.1E-03	2.5E-10	120.8E.....EE.....H.....
P1-068761	P1-068761	NB	NB	0.7	6.6E-03	7.1E-08	49.7	1.4E-03	2.6E-09	122.5E.E...EE.....H.....E..
P1-068761_E55A	P1-070868	NB	NB	2.8	6.4E-03	1.2E-07	42.2	1.7E-03	3.4E-09	113.1E.E...E.....H.....E..
P1-068761_H100G	P1-070872	NB	NB	2.9	1.4E-02	2.3E-07	36.1	5.2E-03	4.4E-09	121.0E.E...EE.....E.....
P1-068761_E56N	P1-070870	NB	NB	1.7	>1E-02	-8.2E-06	17.6	5.5E-03	1.9E-08	86.3E.E...E.....H.....E..
P1-068761_E55A_E56N	P1-070878	NB	NB	0.9	2.9E-02	2.1E-07	16.4	5.6E-03	2.1E-08	79.3E.E...H.....E..
P1-068761_E30D	P1-070864	NB	NB	0.4	1.8E-02	3.7E-07	25.6	6.2E-03	8.3E-09	109.9E...EE.....H.....E..
P1-068761_E30D_E55A	P1-070890	NB	NB	1.8	>1E-02	-1.1E-07	22.1	7.4E-03	1.2E-08	99.1E...E.....H.....E..
P1-061029	P1-061029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	4.5E-09	98.5	GPTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV
P1-068761_E56N_H100G	P1-070900	NB	NB	4.4	NB	NB	19.4	8.1E-03	1.0E-08	110.9E.E...E.....E.....
P1-068761_E30D_H100G	P1-070894	NB	NB	3.1	>1E-02	-8.1E-08	14.6	2.1E-02	1.5E-08	91.9E...EE.....E.....
P1-068761_E30D_E56N	P1-070892	NB	NB	0.4	>1E-02	-3.2E-08	8.3	3.4E-02	5.0E-08	56.3E...E.....H.....E..

ФИГ. 10А

Антитело	PI ID	pH 7.4			pH 6.7			pH 6.0			HCDR1	HCDR2	HCDR3
		kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax			
P1-068767_D52N_D102V	P1-070930	6.7E-03	8.7E-08	60.0	1.8E-03	7.5E-09	101.0	1.2E-03	8.8E-10	114.6E.....E.....E..
P1-068767_D52N	P1-070906	NB	NB	3.9	6.7E-03	2.1E-07	38.9	1.5E-03	3.2E-09	116.6E.....E.....E..D
P1-068767_D52N_E55A	P1-070916	NB	NB	2.3	5.5E-03	1.2E-07	33.7	1.5E-03	4.0E-09	112.0E.....E.....E..D
P1-068767_E55A_D102V	P1-070932	1.0E-02	2.8E-07	35.4	3.1E-03	1.5E-08	85.7	2.0E-03	1.9E-09	111.3E.....	..D.....E..
P1-068767_D102V	P1-070912	9.2E-03	1.7E-07	44.7	2.8E-03	1.4E-08	98.5	2.0E-03	1.3E-09	111.9E.....	..D...E.....E..
P1-068767_E55A	P1-070908	NB	NB	2.8	8.5E-03	3.8E-07	26.8	2.3E-03	5.7E-09	108.0E.....	..D.....E..D
P1-068767_E30D_D52N	P1-070914	NB	NB	4.5	1.1E-02	1.2E-07	35.8	2.3E-03	5.8E-09	105.7E.....E.....E..D
P1-068767	P1-068767	NB	NB	1.9	7.2E-03	1.8E-07	31.1	2.4E-03	5.2E-09	111.7E.....	..D...E.....E..D
P1-068767_E30D_D102V	P1-070926	1.1E-02	2.2E-07	40.8	3.5E-03	1.7E-08	95.7	3.0E-03	2.1E-09	114.8E.....	..D...E.....E..
P1-068767_E30D	P1-070904	NB	NB	5.8	NB	NB	21.0	3.2E-03	9.6E-09	99.8E.....	..D...E.....E..D
P1-068767_E30D_E55A	P1-070922	NB	NB	3.5	NB	NB	22.6	3.5E-03	8.3E-09	108.8E.....	..D.....E..D
P1-061029	P1-061029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	4.5E-09	98.5	GPTLDQYAMH	GINWNSANIGYADSVRG	VPGYSGGHTDAPDV
P1-068767_E100IF_D102V	P1-070920	8.3E-03	4.1E-08	86.8	4.7E-03	1.1E-08	103.4	8.2E-03	2.7E-09	103.4E.....	..D...E.....E..
P1-068767_E55A_E100IF	P1-070918	NB	NB	1.8	NB	NB	8.6	1.3E-02	6.2E-08	42.5E.....	..D.....E..D
P1-068767_D52N_E100IF	P1-070928	NB	NB	9.4	>1E-02	-3.9E-08	22.7	6.8E-02	2.0E-08	64.0E.....E.....E..D
P1-068767_E100IF	P1-070910	NB	NB	1.8	2.6E-02	5.2E-06	9.6	>1E-02	-4.2E-08	49.4E.....	..D...E.....E..D
P1-068767_E30D_E100IF	P1-070924	NB	NB	1.0	2.7E-02	1.0E-05	7.0	>1E-02	-8.2E-08	32.9E.....	..D...E.....E..D

ФИГ. 10В

**Конкурирующее
(второе) mAb**

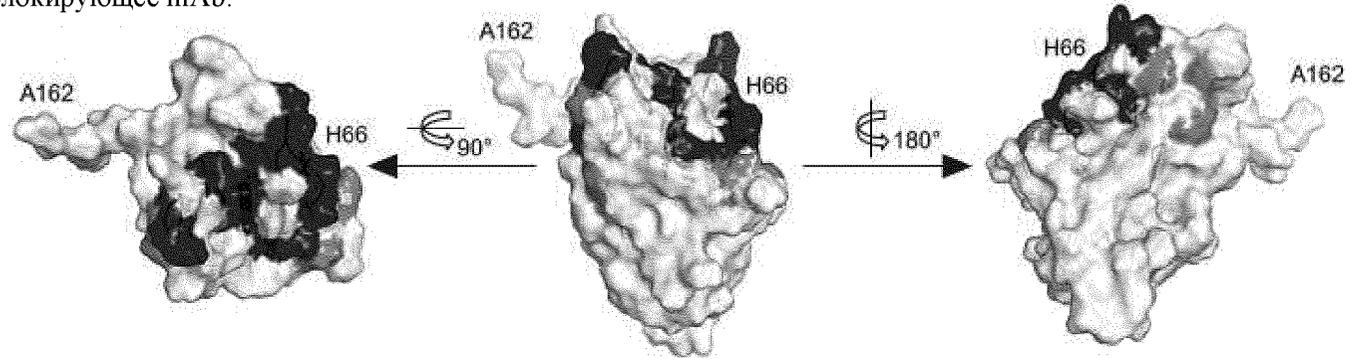
Захваченное (первое) mAb	P1-061015	P1-061029	P1-068761	P1-068767	VISTA mAb 3	VISTA mAb 2	VISTA mAb 1
P1-061015							
P1-061029							
P1-068761							
P1-068767							
VISTA mAb 3							
VISTA mAb 2							
VISTA mAb 1							

**Нет сигнала связывания от
второго mAb
(блокирование/конкуренция)**

*Связывание второго mAb (нет
блокирования/конкуренции)*

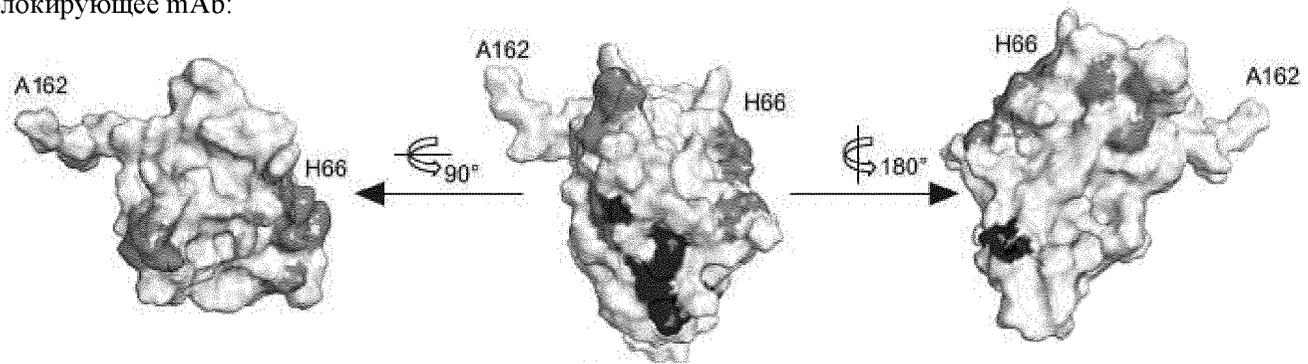
ФИГ. 11А

Блокирующее mAb:

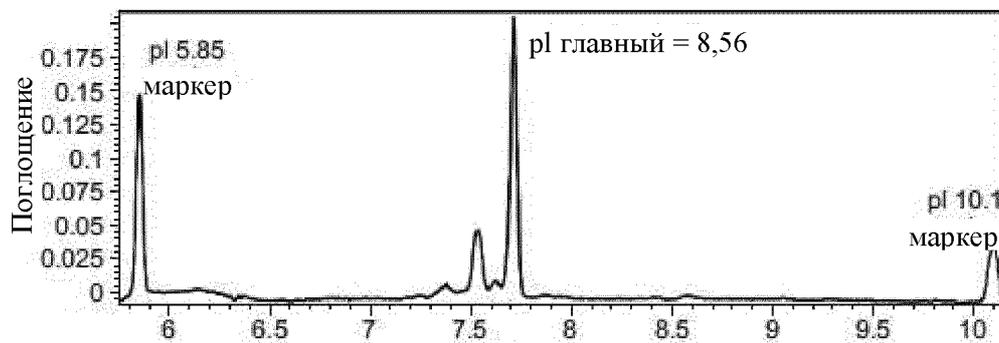


ФИГ. 11B

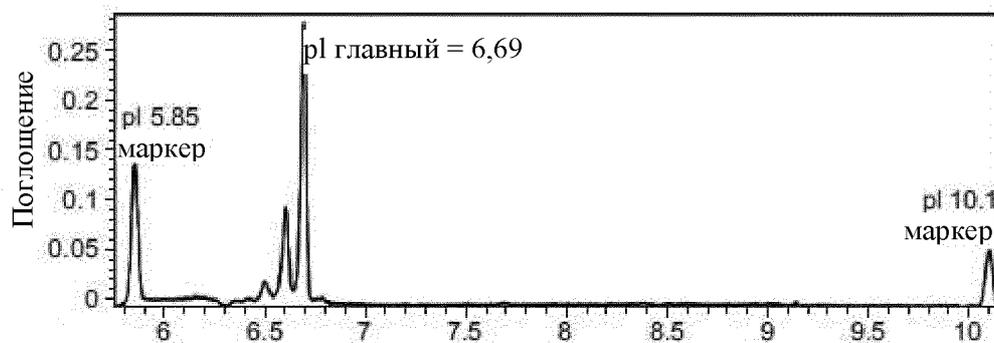
Неблокирующее mAb:



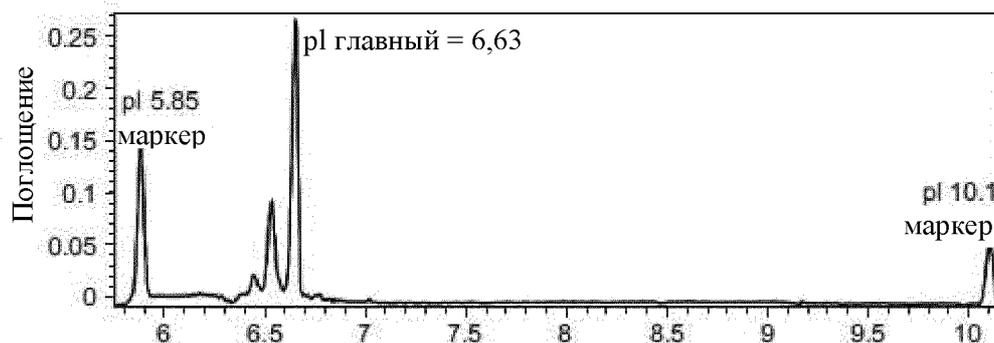
ФИГ. 11C



ФИГ. 12А



ФИГ. 12В



ФИГ. 12С

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
P1-061029	EVQLVDSGGGLVQP	GKSLRLSCAASGFTL	DDYAMHWVRQAPGR	GLEWVSGINWNSAN	IGYADSVKGRFTIS	RDAKNSLYLQMN	SLRTEDTALYYCA	KVPGYSGGNIDAF	DVWGQGTMTVSS			
P1-069312			E.E			EE				H	E	
P1-069309			E		D	E					E	D
P1-069307												
P1-070864			E			EE				H	E	
P1-070866			E			EE				H	E	
P1-070868			E.E			E				H	E	
P1-070870			E.E			E				H	E	
P1-070872			E.E			EE					E	
P1-070874			E.E			EE				H		
P1-070876						EE				H	E	
P1-070878			E.E							H	E	
P1-070880			E.E			EE						
P1-070882			E			E				H	E	
P1-070884			E			E				H	E	
P1-070886			E			EE					E	
P1-070888			E			EE				H		
P1-070890			E			E				H	E	

ФИГ. 13А-2

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
P1-061029	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLS	CAASGPTLDDYAMHWVRQAP	GKLEWVSGINWNSANIGYAD	SVKGRPTISRDN	AEKSLYLQ	MNSLRTEDTAL	YCAKVP	GYSGGWIDAF	DVWGQGTMTV	VSS		
P1-070892E.....E.....H.....E.....
P1-070894E.....EE.....E.....
P1-070896E.....EE.....H.....
P1-070898E.E.....E.....H.....
P1-070900E.E.....E.....E.....
P1-070902E.E.....E.....H.....
P1-070904D.E.....E.D.....
P1-070906E.....E.....E.D.....
P1-070908E.....D.....E.D.....
P1-070910E.....D.E.....D.....
P1-070912E.....D.E.....E.....
P1-070914E.....E.D.....
P1-070916E.....E.D.....
P1-070918E.....D.....D.....
P1-070920E.....D.E.....
P1-070922D.....E.D.....
P1-070924D.E.....D.....
P1-070926D.E.....E.....
P1-070928E.....E.....D.....
P1-070930E.....E.....E.....
P1-070932E.....D.....E.....

ФИГ. 13А-3

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
P1-061015	QVQLVESGGGVVQ	GRSLRLSCAASG	FTFSSYAMHWV	QAPGKGLEWVA	IIWYDGSNKY	YADSVKGRPTI	SRDNSKNTLY	LQMNSLRAEDT	AVYYCARD	SGFYSSYIFD	YWGQGT	LVFVSS
P1-068736	E.....	D.....	D.....	D.....	D.....
P1-068738	E.H.....	D.....	H.....	ED.....
P1-068740	D.....	D.D.....	D.....	D.....
P1-068742	D.....	D.D.....	ED.....
P1-068744	E.....	H.....	E.....	E.....	E.....
P1-068746	HH.....	D.....
P1-068748	HH.....	DD.....	D.....
P1-068750	D.D.....	E.D.....	EE.....
P1-068752	E.....	D.....	D.....	E.....
P1-068754	D.D.....	E.D.....	H.D.....

ФИГ. 13В

1701.3434.41F11.C6.C11
Vista_VH1

1 Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
CAG CTG CAG TTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC

CDR1
52 L R L S C A A S G F T F S D Y Y M
CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAT TAC ATG

CDR2
103 S W I R Q A P G K G L E W V S Y I
AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GPT TCA TAC ATT

S N S G S P I Y Y A D S V K G R F
154 AGT AAT AGT GGT AGT CCC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC

T I S R D N A K N S L Y L Q M N S
205 ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

CDR3
256 L R A E D T A V Y Y C A R D L P G
CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT CTC CCG GGC

W Y F D L W G R G T L V T V S S
307 TGG TAC TTC GAT CTC TGG GGC CGT GGC ACC CTG GTC ACT GTC TCC TCA

ФИГ. 14А

41 / 83

	FAMILY	LOCUS	RF	TGL	VBASEENTRY
V-SEGMENT	VH3	3-11			DP-35/V3-11...+
D-SEGMENT	D6	6-19	1		D6-19
J-SEGMENT	JH2	2			JH2
INPUT	41F11.C6.C11-VH1				

3-11 Q V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A
 INPUT - - - - -

CDR1

3-11 A S G F T F S D Y Y M S W I R Q A P G K G L E
 INPUT - - - - -

CDR2

3-11 W V S Y I S S S G S T I Y Y A D S V K G R F T
 INPUT - - - - - N - - - - P - - - - -

3-11 I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A
 INPUT - - - - -

CDR3

3-11 V Y Y C A R
 6-19 G W Y
 JH2 W Y F D L W G R G T L V T
 INPUT - - - - - D L P - - - - -

JH2 V S S
 INPUT - - -

ФИГ. 14В

1701.3434.41F11.C6.C11
Vista_VK1

1 E I V L T Q S P A T L S L S P G E
GAA ATT GTG TTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

52 R A T L S C CDR1 R A S Q S V S S Y L A
AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC TAC TTA GCC

103 W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y CDR2 D A
TGG TAC CAA CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GAT GCA

154 S N R A T G I P A R F S A S G S G
TCC AAC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GCC AGG TTC AGT GCC AGT GGG TCT GGG

205 T D F T L T I S S L E P E D F A V
ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTA GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTT

256 CDR3 Y Y C Q Q R N N W P R T F G Q G T
TAT TAC TGT CAG CAG CGT AAC AAC TGG CCT CGG ACG TTC GGC CAA GGG ACC

307 K V E I K
AAG GTG GAA ATC AAA

ФИГ. 15А

	FAMILY	LOCUS	TGL	VBASEENTRY
V-SEGMENT	VK3	L6		Vg/38K...+
J-SEGMENT	JK1	1		JK1
INPUT	41F11.C6.C11-VK1			

L6	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR1																						
L6	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR2																						
L6	L	I	Y	D	A	S	N	R	A	T	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR3																						
L6	D	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	R	S
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

L6	N W																						
JK1							T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K						
INPUT	-	-	P	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ФИГ. 15B

1701.3434.41F11.C6.C11
Vista_VK2

1 D I Q M T Q S P S S L S A S V G D
GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

CDR1
52 R V T I T C R A S Q G I S S W L A
AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

CDR2
103 W Y Q Q K P E K A P K S L I Y A A
TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

154 S S L Q S G V P S R F S G S G S G
TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

205 T D F T L T I S S L Q P E D F A T
ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

CDR3
256 Y Y C Q Q Y N S Y P R T F G Q G T
TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCT CGG ACG TTC GGC CAA GGG ACC

307 K V E I K
AAG GTG GAA ATC AAA

Фиг. 16А

	FAMILY	LOCUS	TGL	VBASEENTRY
V-SEGMENT	VK1	L15		DPK7/HK134...+
J-SEGMENT	JK1	1		JK1
INPUT	41F11.C6.C11-VK2			

L15	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR1																						
L15	R	A	S	Q	G	I	S	S	W	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	E	K	A	P	K	S
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR2																						
L15	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR3																						
L15	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	N
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

L15	S Y																						
JK1																							
INPUT	-	-	P	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ФИГ. 16В

1701.3434.41F11.C6.C11

Vista_VK3

1 E I V L T Q S P A T L S L S P G E
 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

CDR1
 52 R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

CDR2
 103 A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

154 A S S R A T G I P D R F S G S G S
 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

205 G T D F T L T I S R L E P E D F A
 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

CDR3
 256 V Y Y C Q Q Y G S S P W T F G Q G
 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG TGG ACG TTC GGC CAA GGG

307 T K V E I K
 ACC AAG GTG GAA ATC AAA

ФИГ. 17А

47 / 83

	FAMILY	LOCUS	TGL	VBASEENTRY
V-SEGMENT	VK3	A27		DPK22/A27...+
J-SEGMENT	JK1	1		JK1
INPUT	41F11.C6.C11-VK3			

A27	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

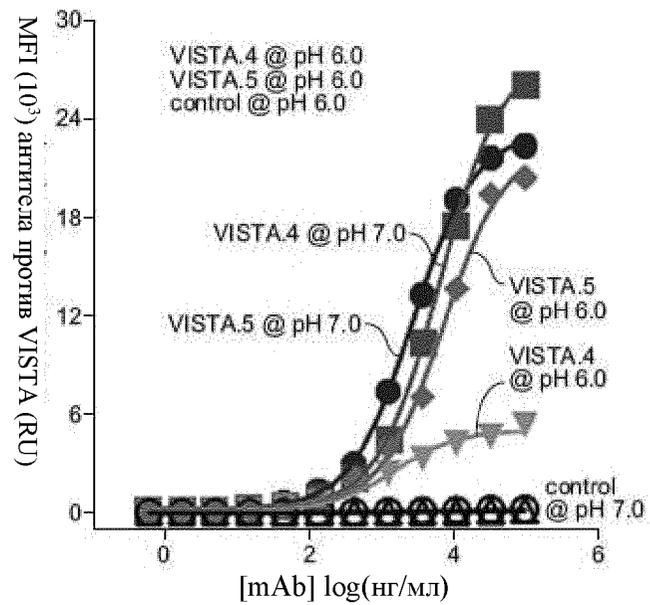
	CDR1																						
A27	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	CDR2																						
A27	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

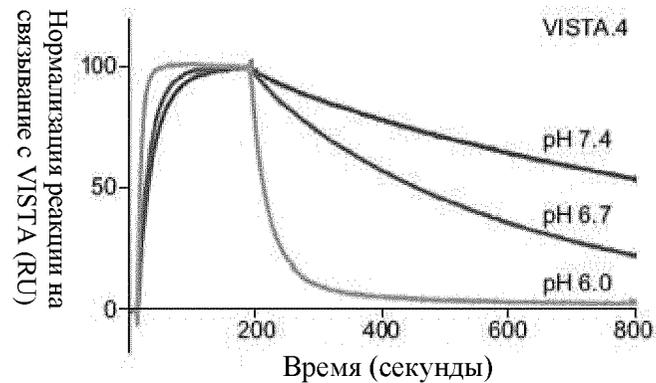
	CDR3																						
A27	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A27	G	S	S																				
JK1				W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K								
INPUT	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

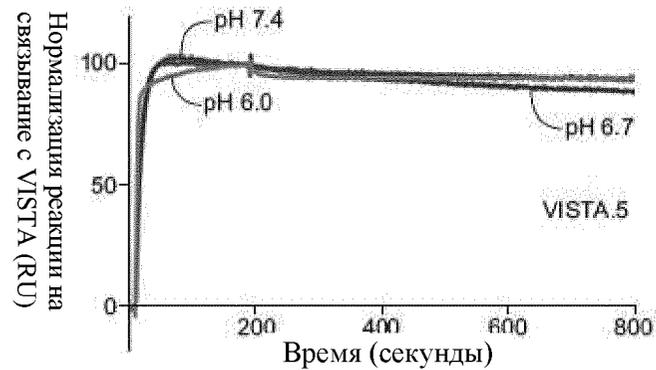
ФИГ. 17B



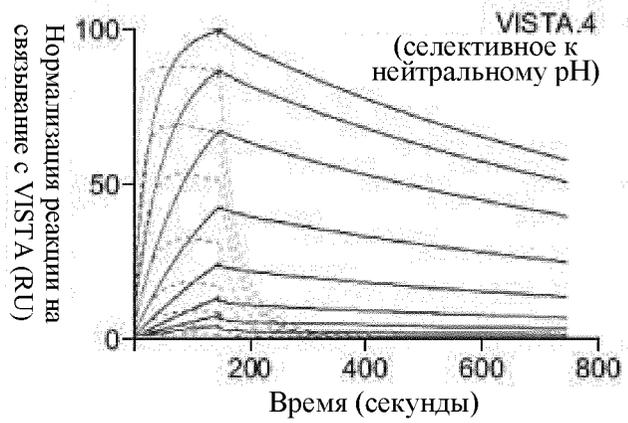
ФИГ. 18А



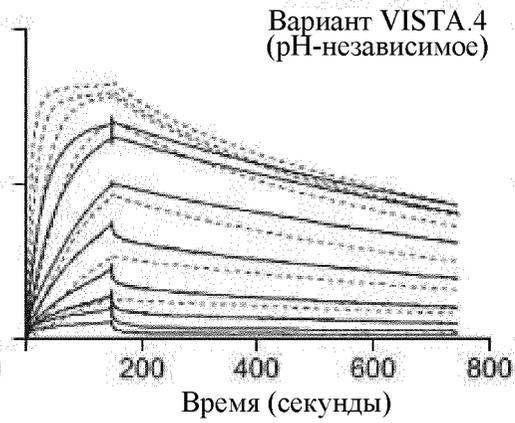
ФИГ. 18В



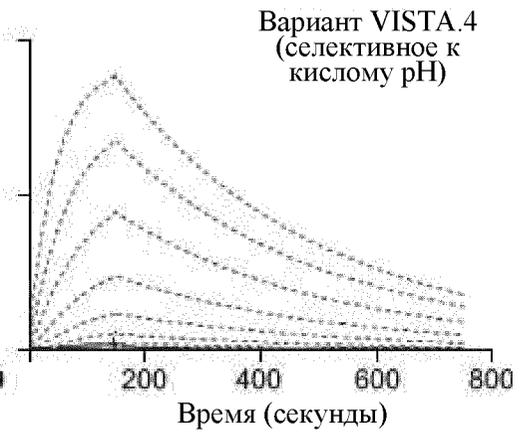
ФИГ. 18С



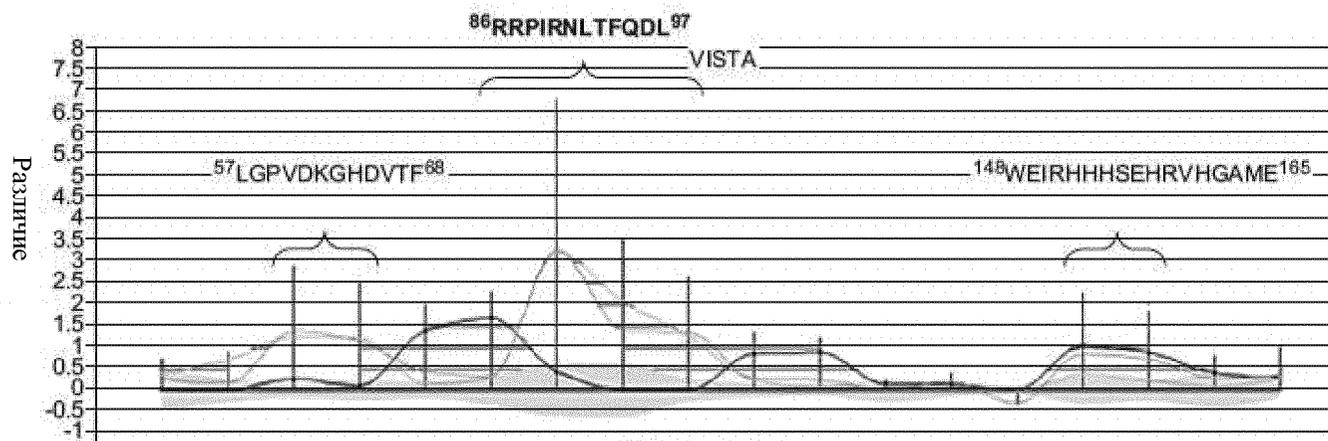
ФИГ. 19А



ФИГ. 19В



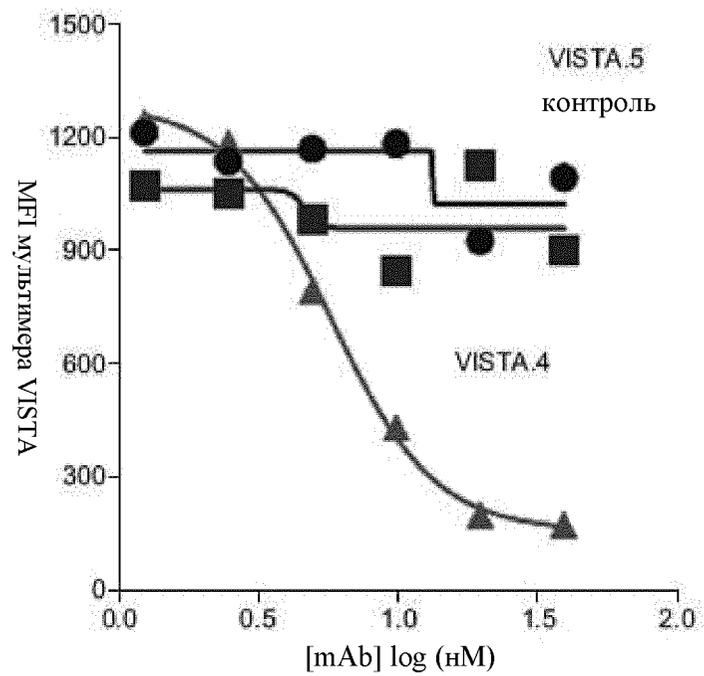
ФИГ. 19С



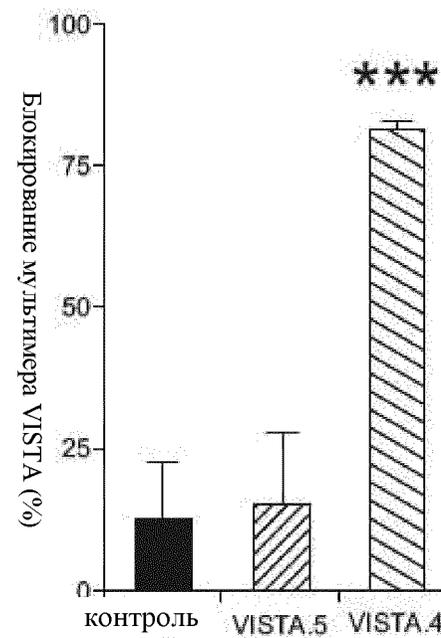
ФИГ. 20А

	10	20	30	40	50
MGVPTALEAG	SWRNGSLLFA	LFLAASLGPV	AAFKVA'PYS	LYVCP'EQNV	
TLTCRLLGPV	<u>DKGHDVTFYK</u>	TWYRSRGEV	QTCSE'RRPIR	<u>NLTFQDLHLH</u>	
HGGHQAANTS	HDLAQRHGLE	SASDHHGNFS	ITMRNL'LLD	SGLYCCLVVE	
<u>IRHHHSEHRV</u>	<u>HGAMELQVQT</u>	GKDAPSNCVV	YPSSQDSEN	ITAAALATGA	

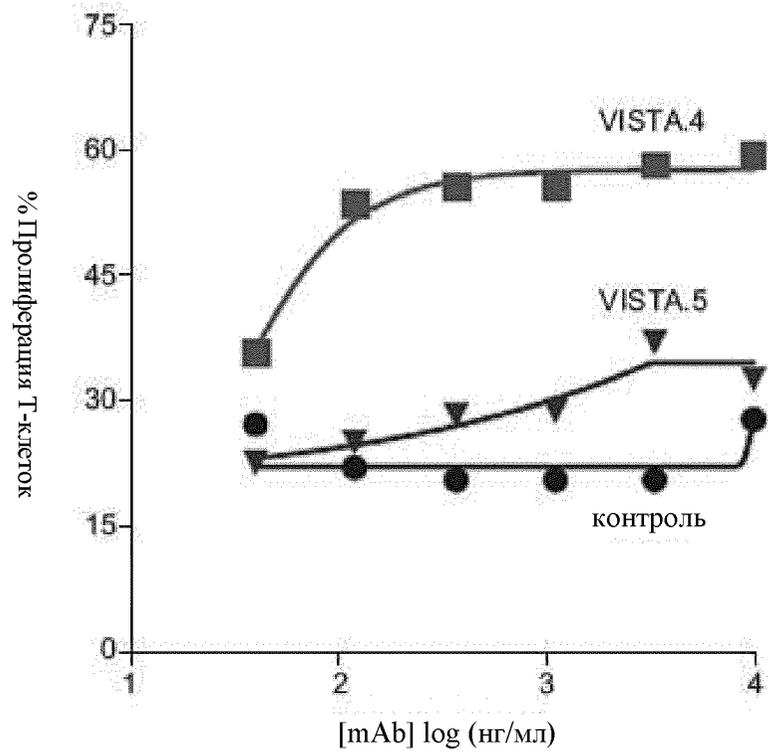
ФИГ. 20В



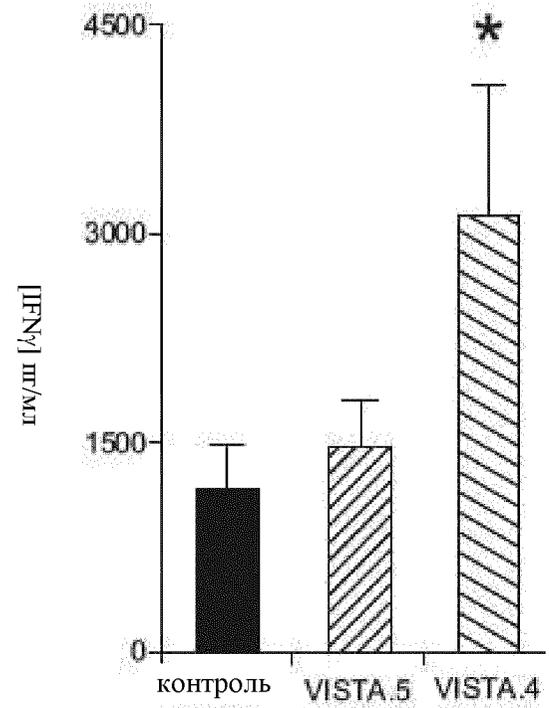
ФИГ. 21А



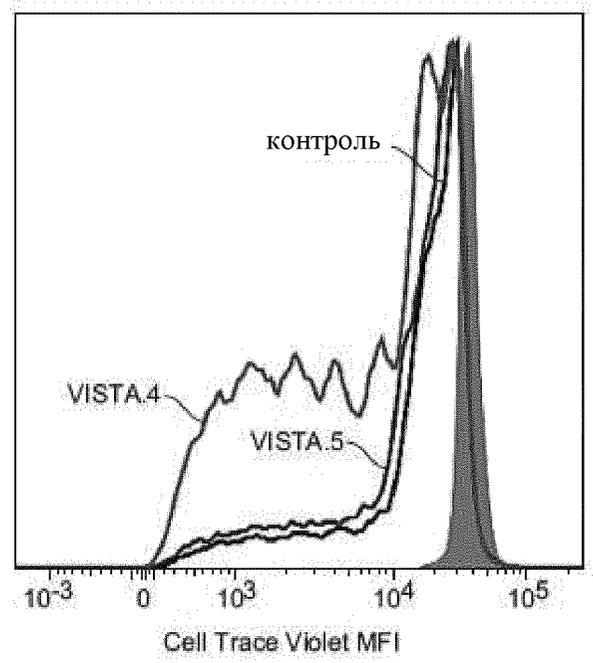
ФИГ. 21В



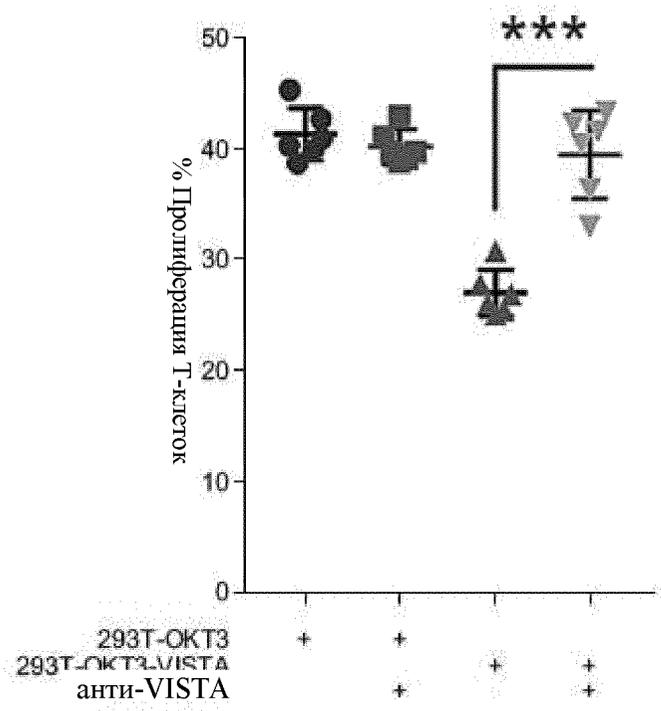
ФИГ. 22А



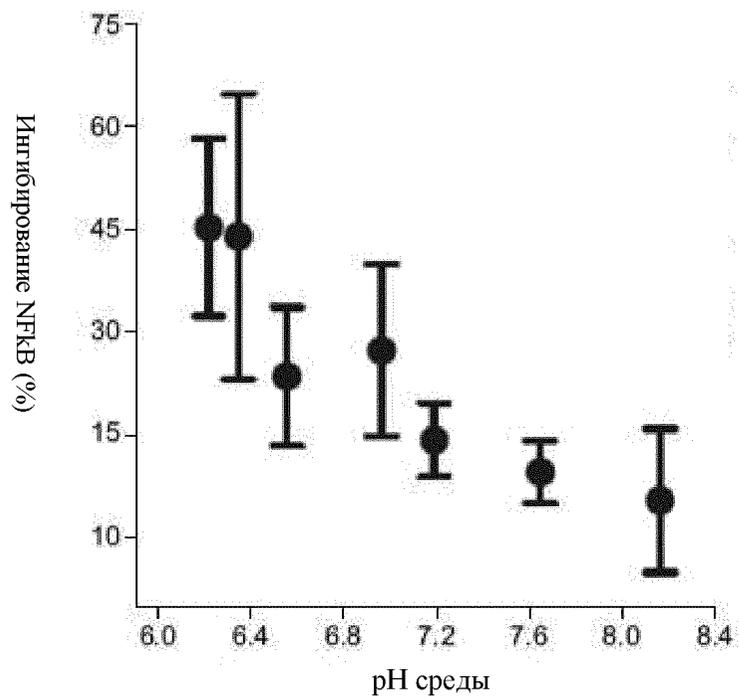
ФИГ. 22В



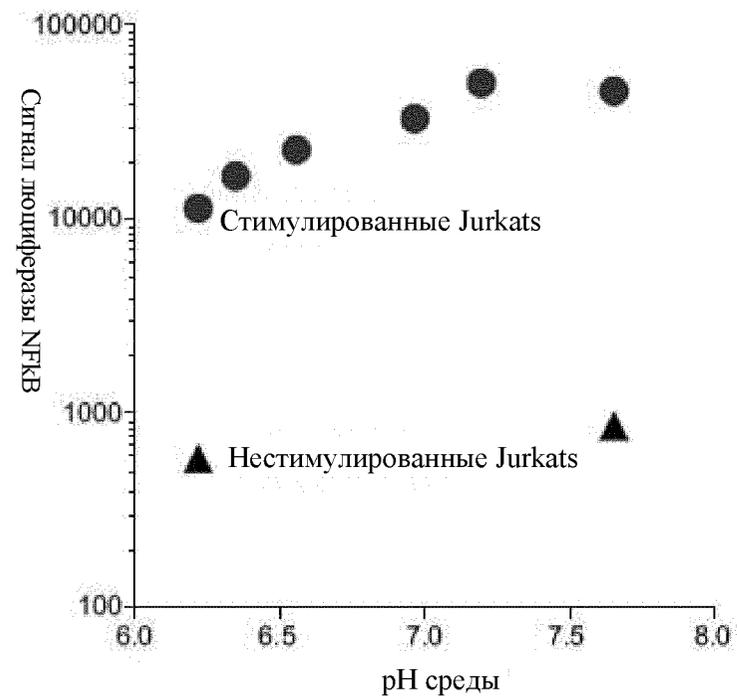
ФИГ. 22С



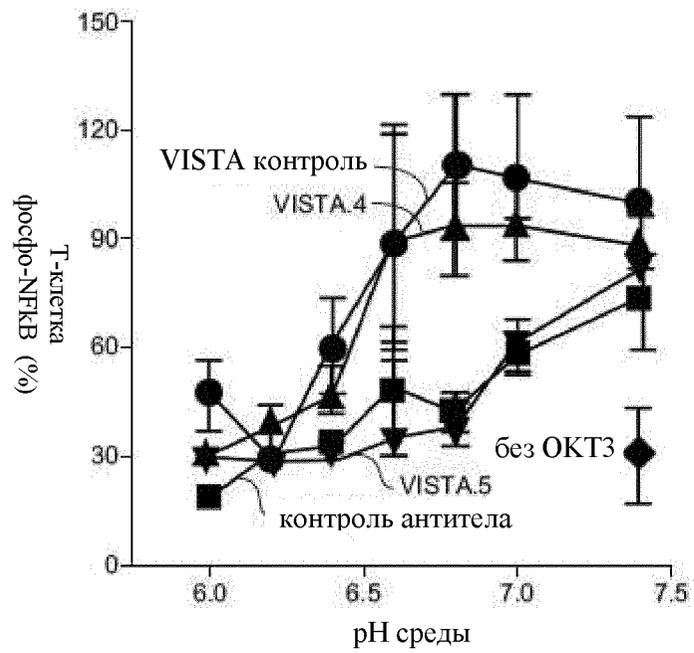
ФИГ. 22D



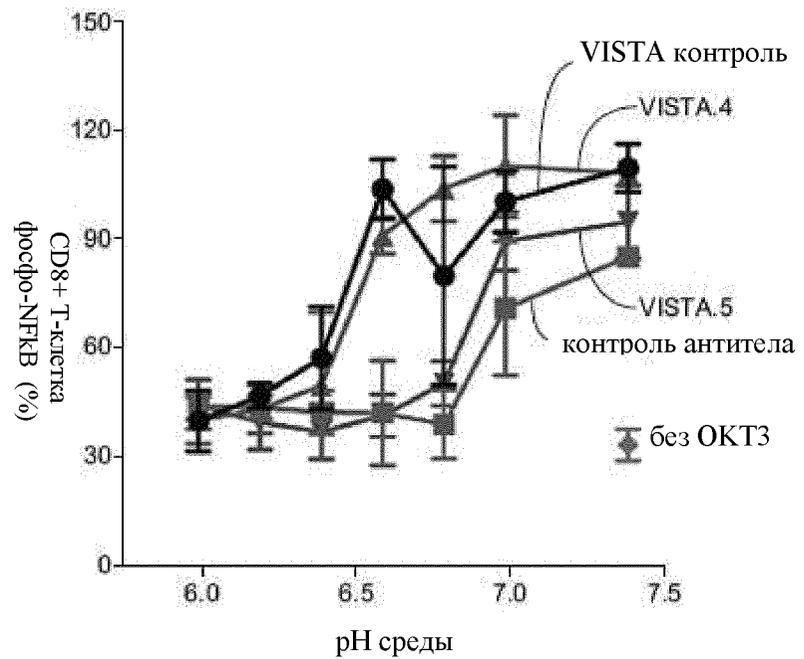
ФИГ. 23А



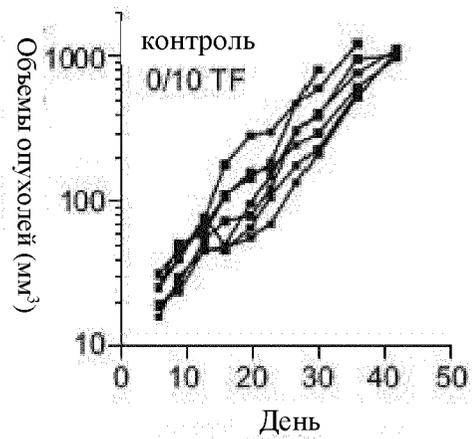
ФИГ. 23В



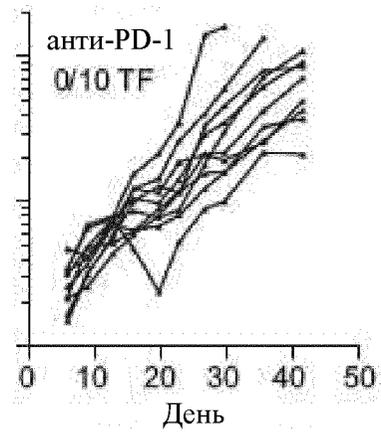
ФИГ. 23С



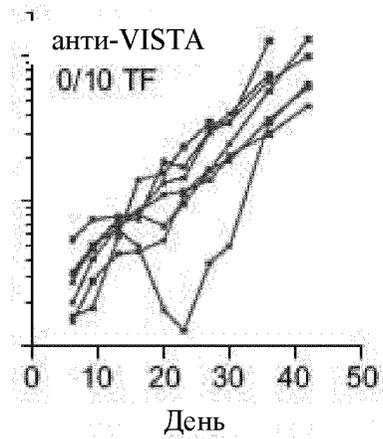
ФИГ. 23D



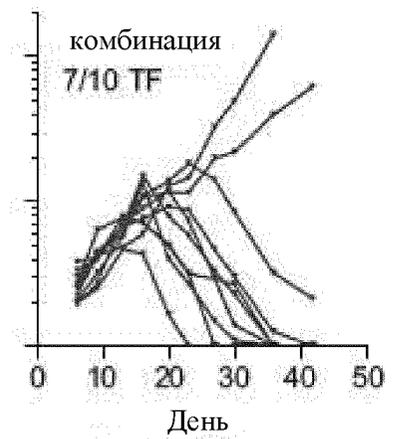
ФИГ. 24А



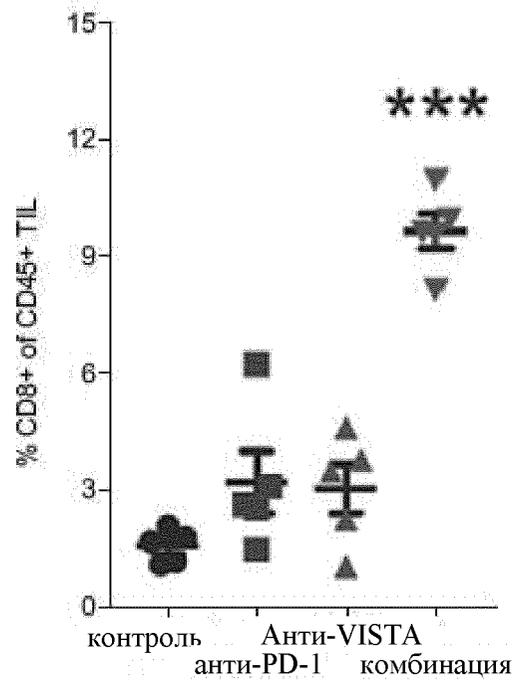
ФИГ. 24В



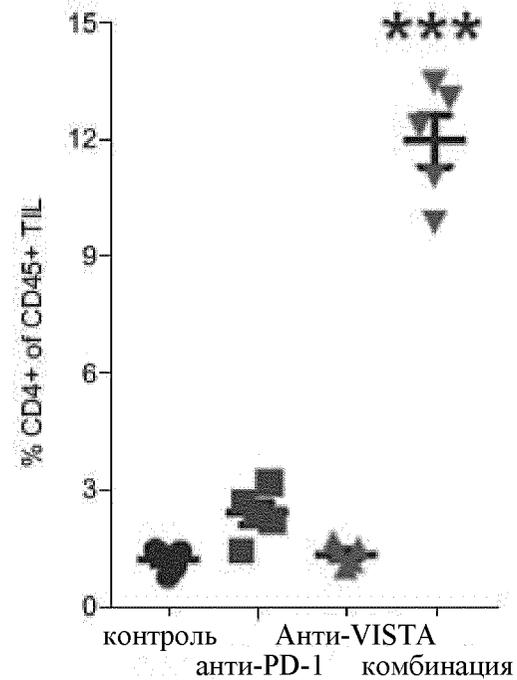
ФИГ. 24С



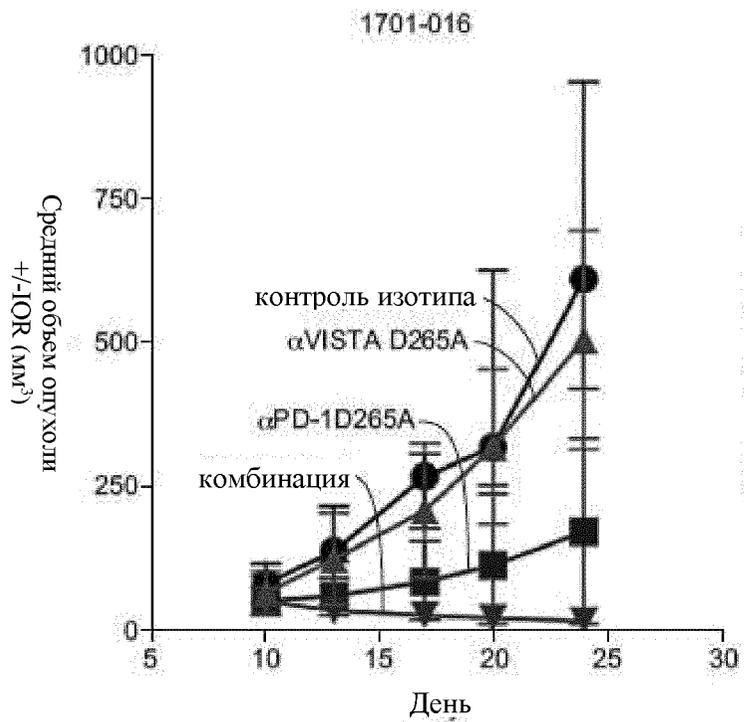
ФИГ. 24D



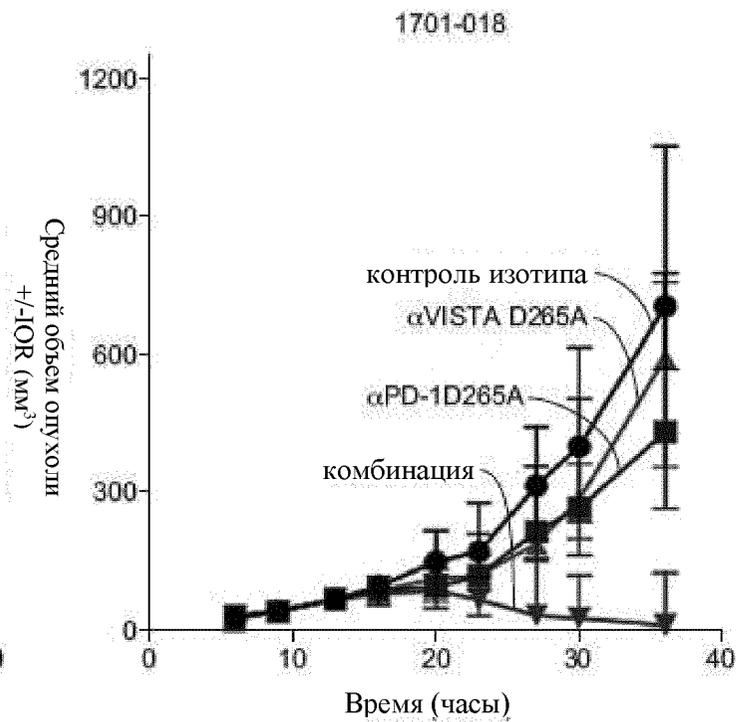
ФИГ. 24E



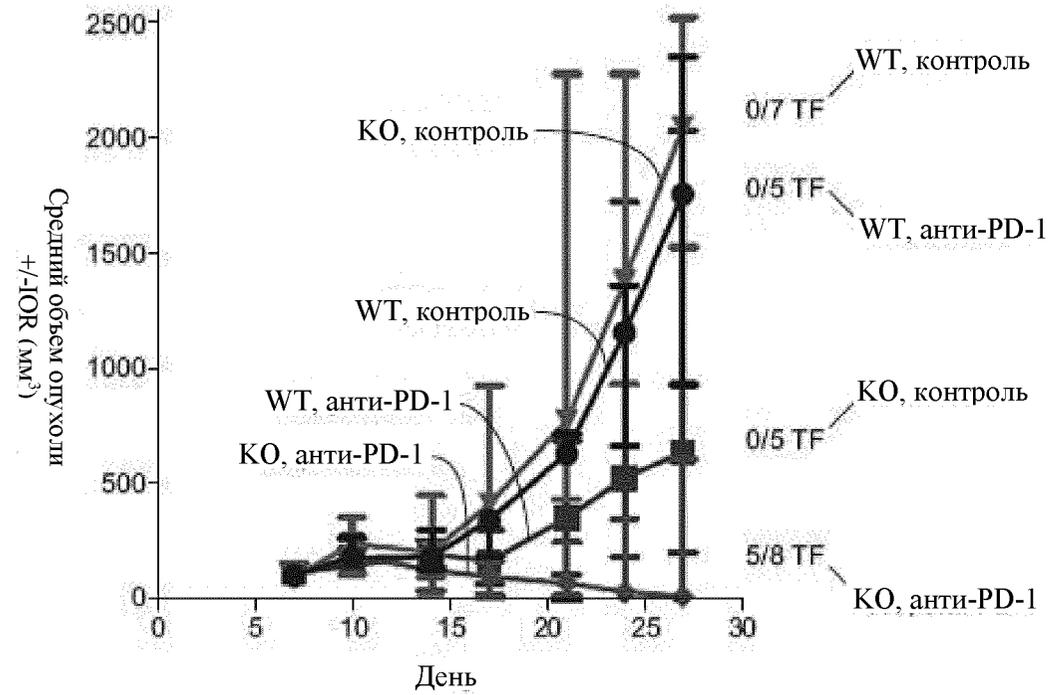
ФИГ. 24F



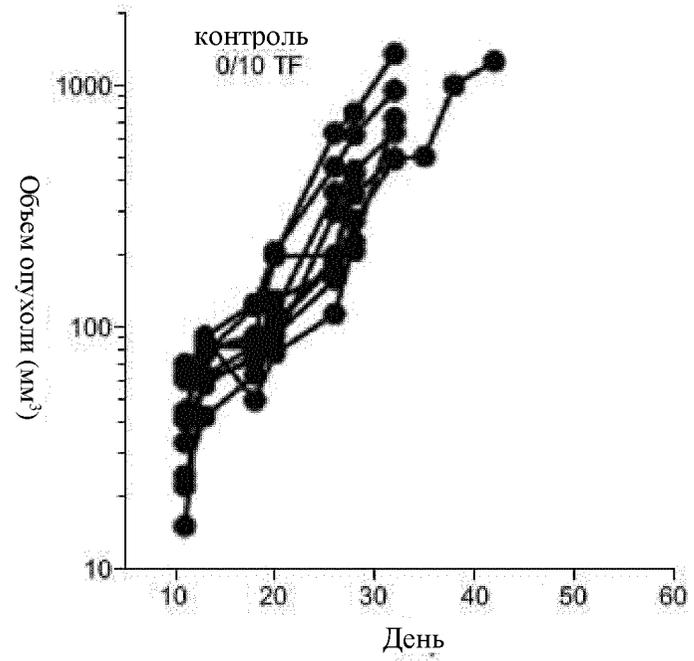
ФИГ. 24G



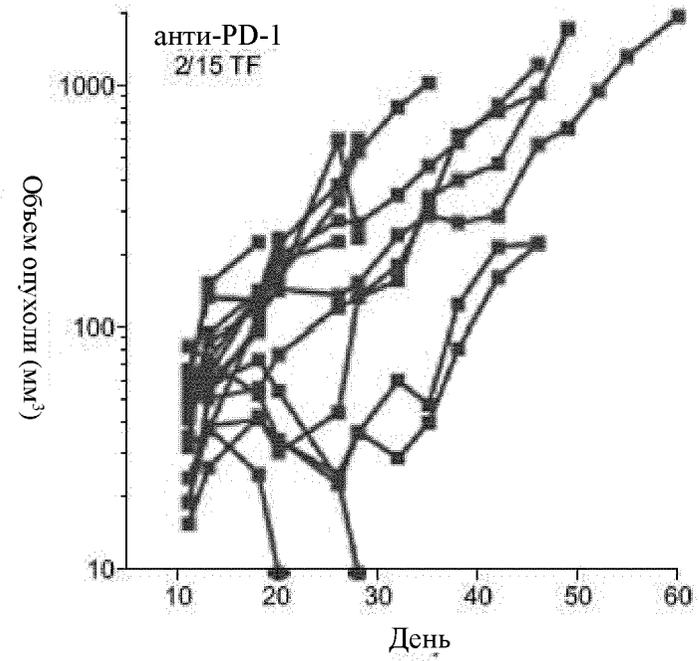
ФИГ. 24H



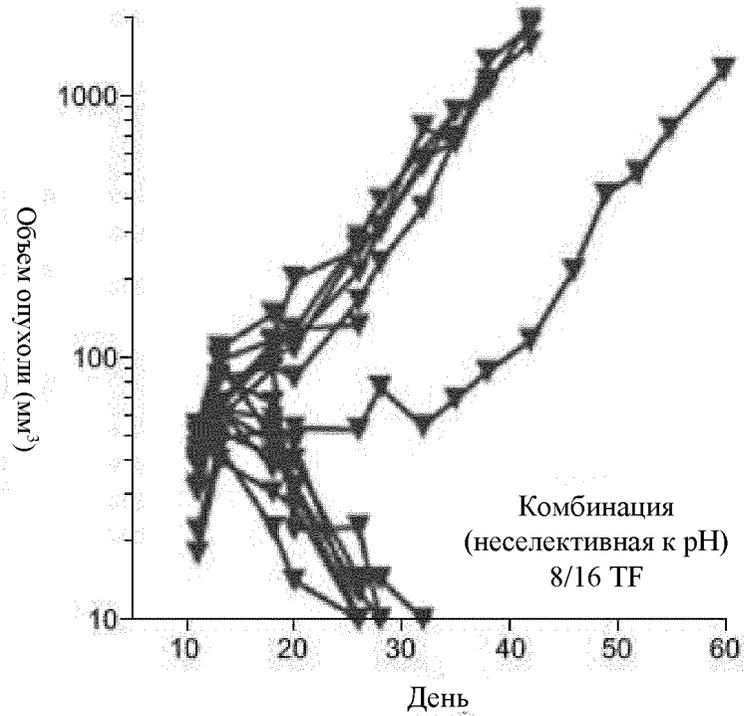
ФИГ. 241



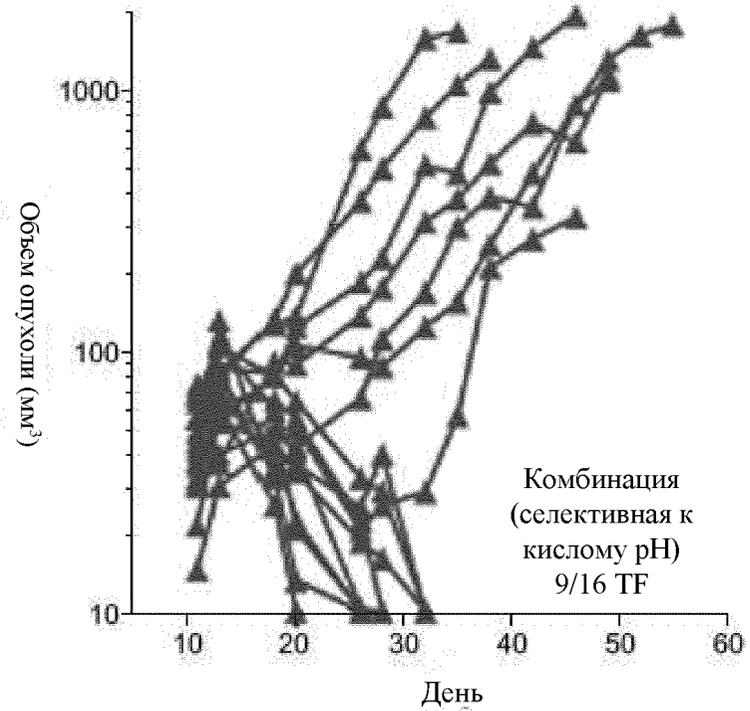
ФИГ. 24J



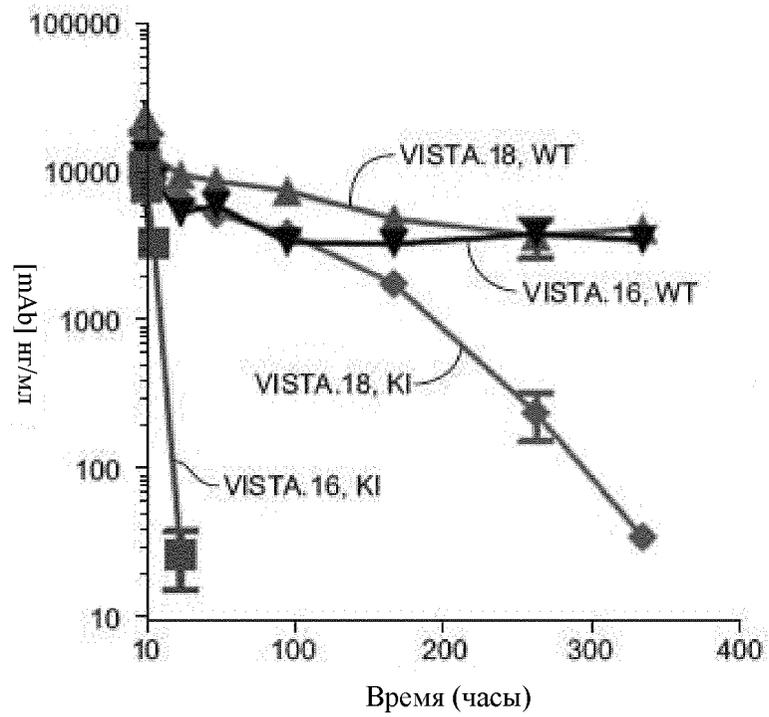
ФИГ. 24K



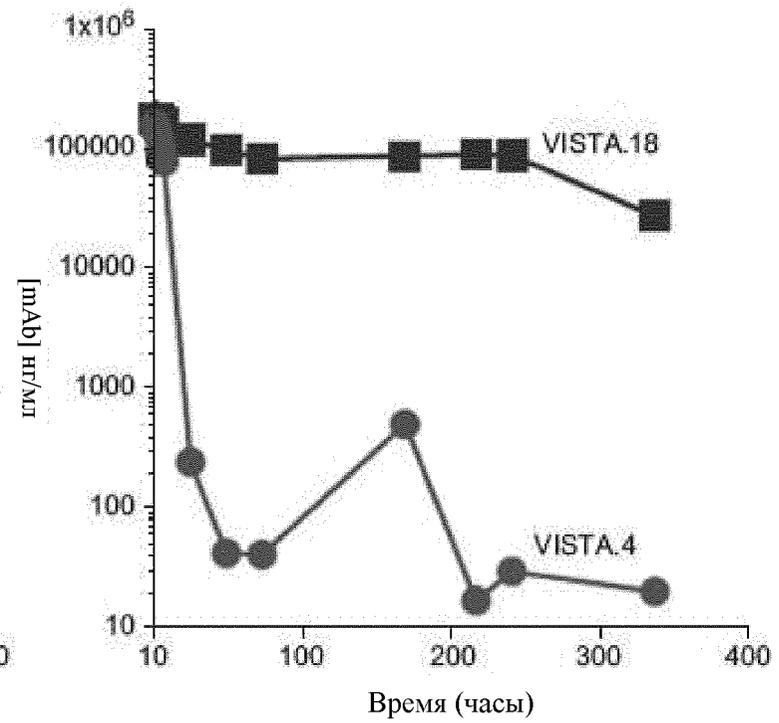
ФИГ. 24L



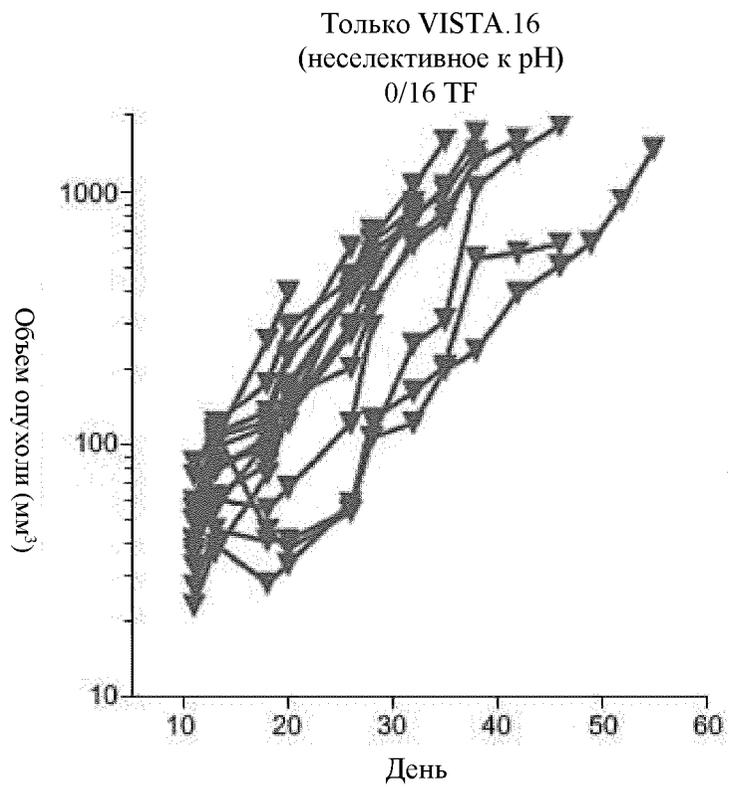
ФИГ. 24M



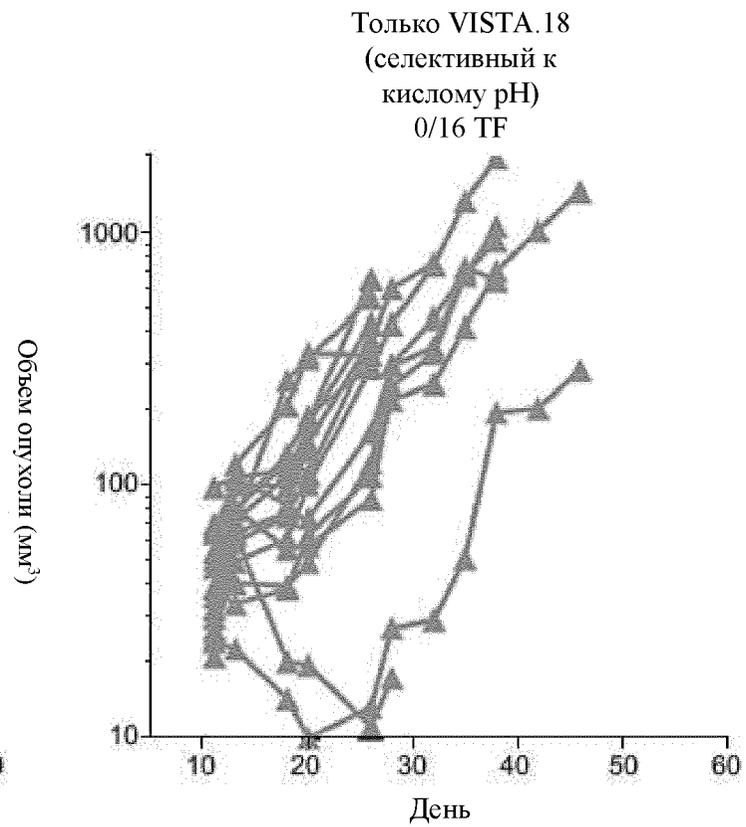
ФИГ. 24N



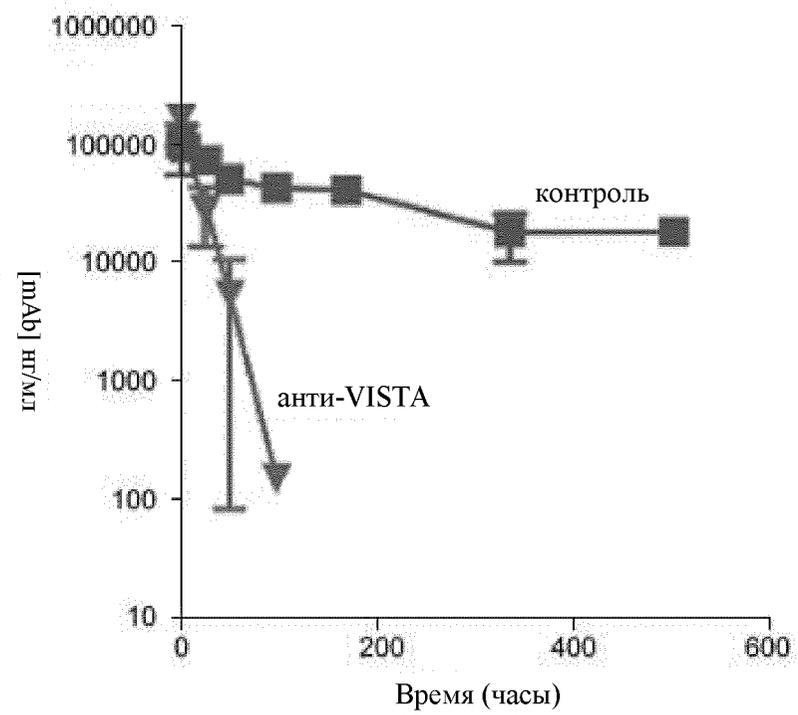
ФИГ. 24O



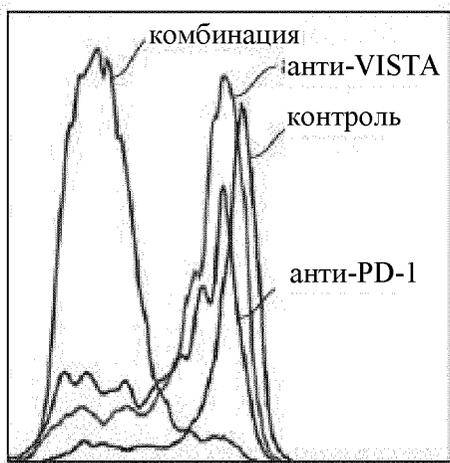
ФИГ. 24P



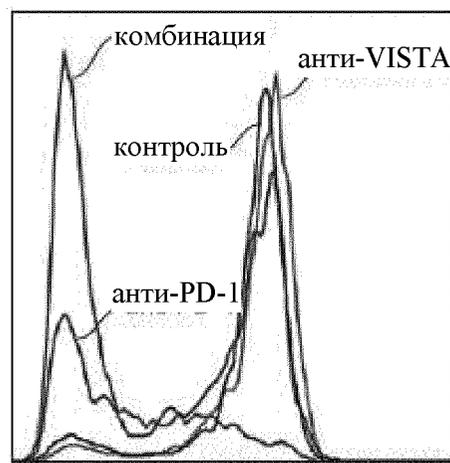
ФИГ. 24Q



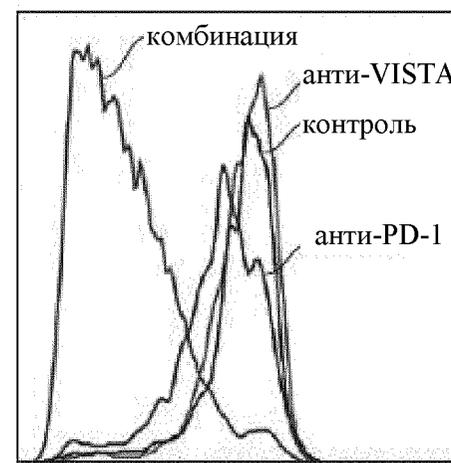
ФИГ. 24R



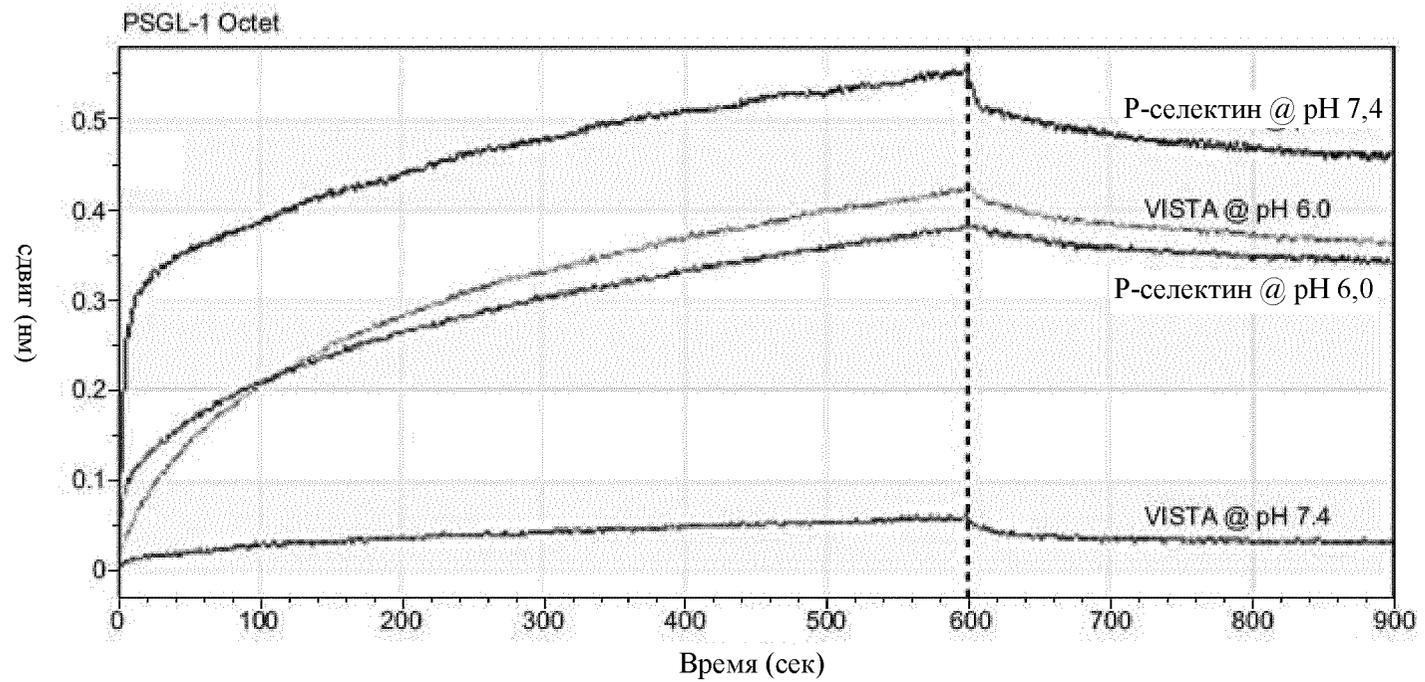
PD-1
ФИГ. 25А



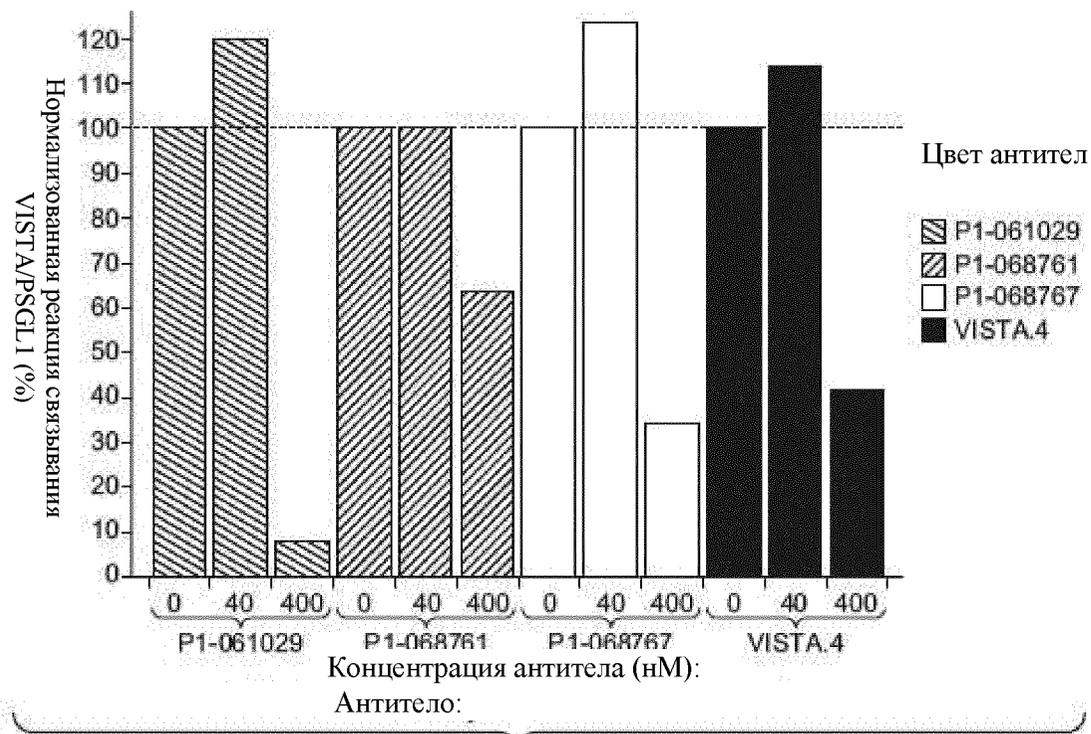
LAG-3
ФИГ. 25В



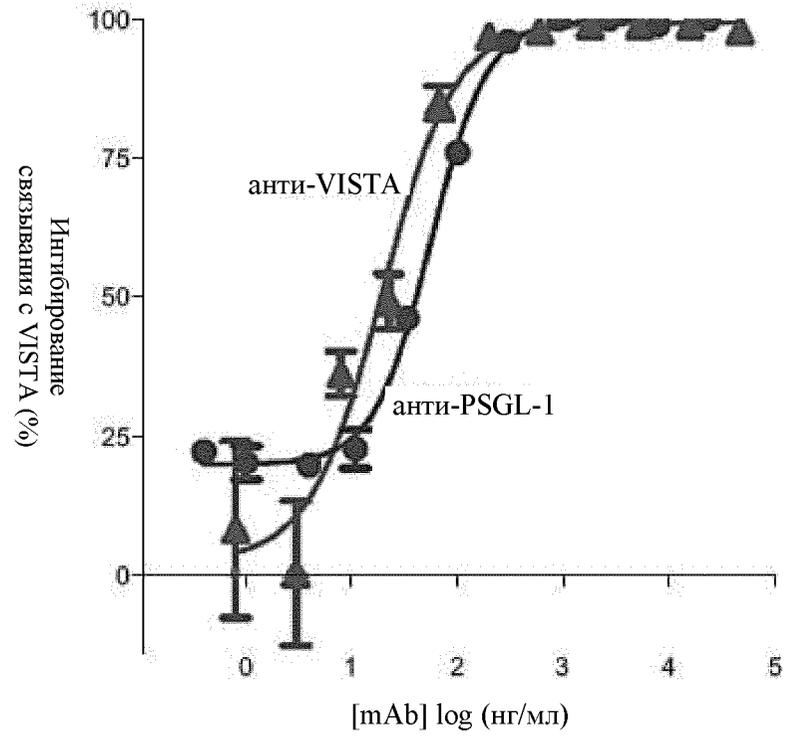
TIM-3
ФИГ. 25С



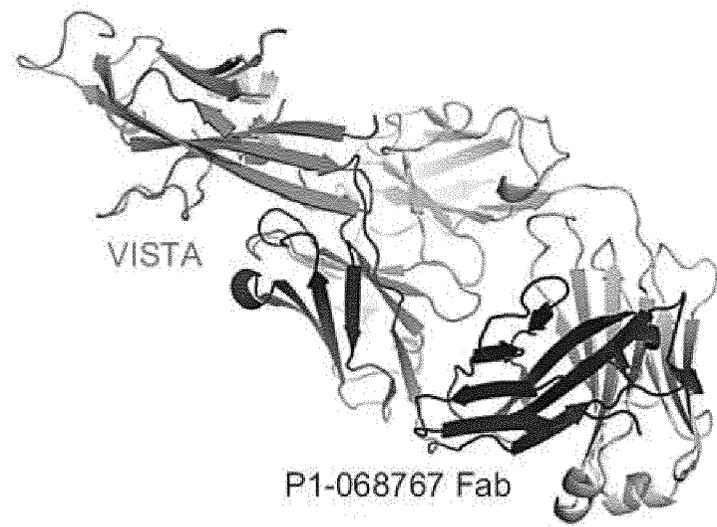
ФИГ. 26А



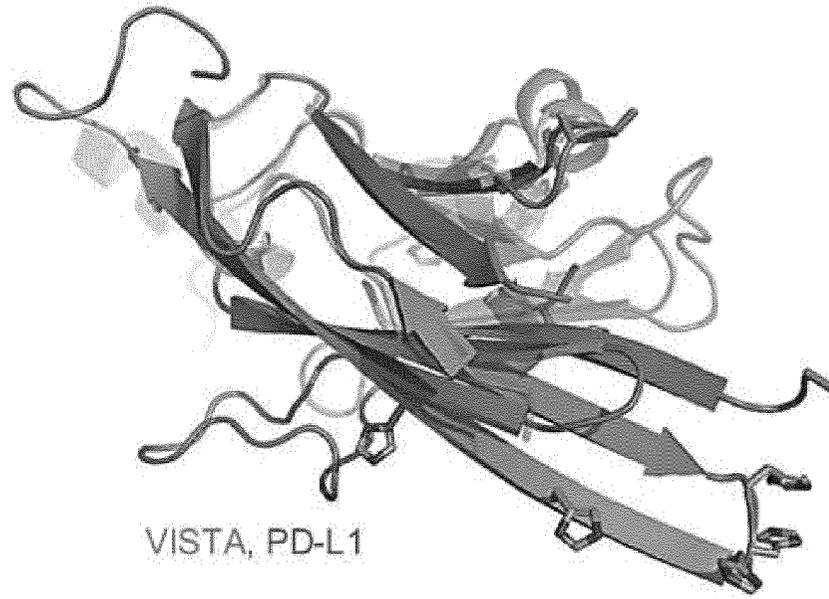
ФИГ. 26В



ФИГ. 26С

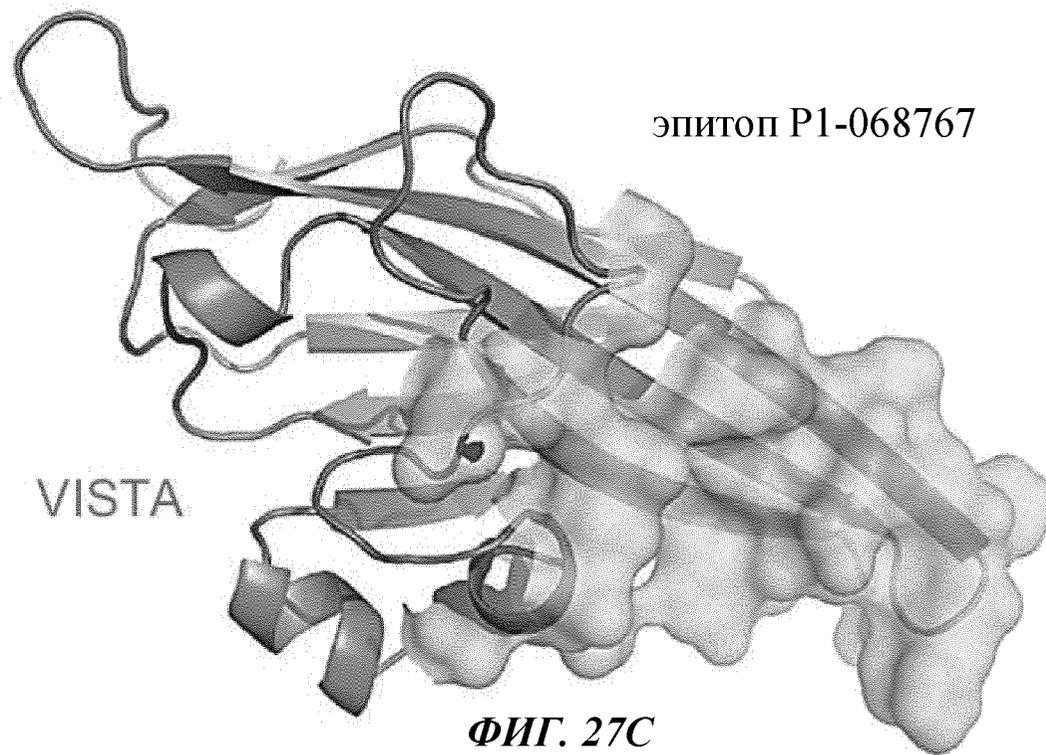


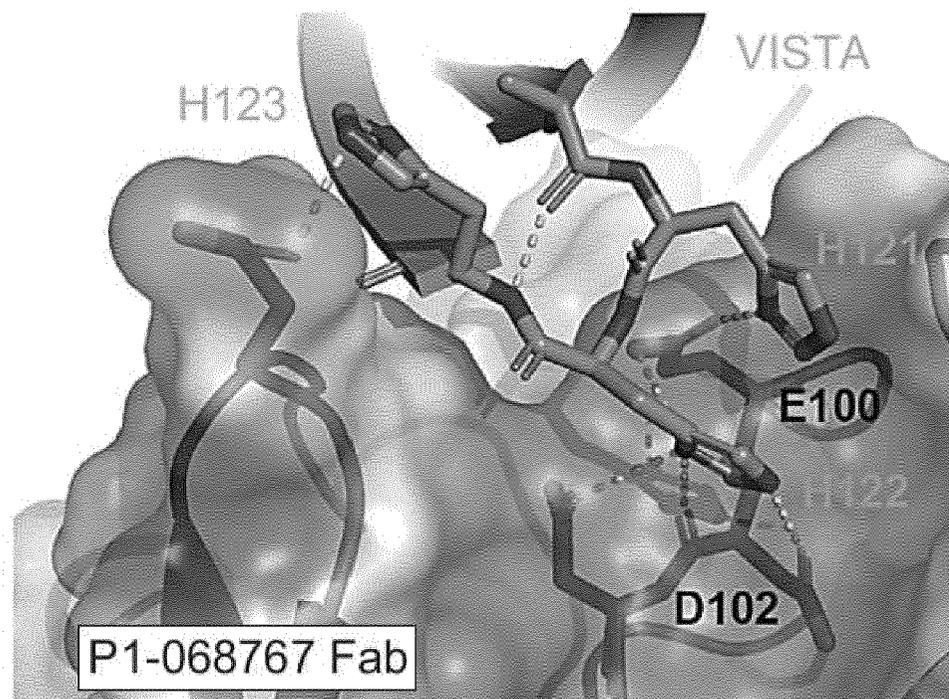
ФИГ. 27А



VISTA, PD-L1

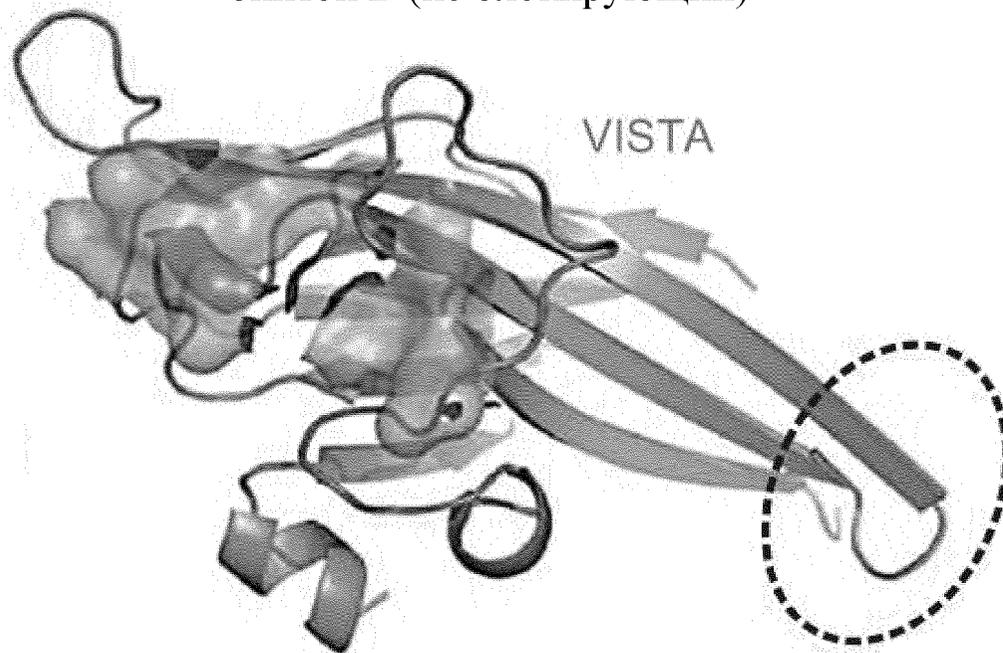
ФИГ. 27В



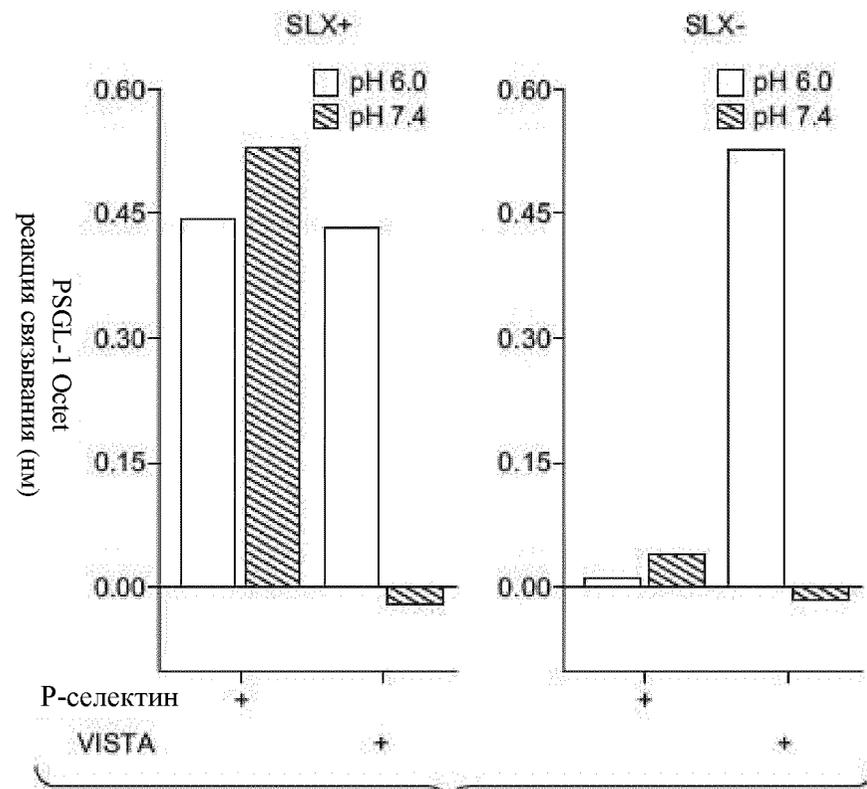


ФИГ. 27D

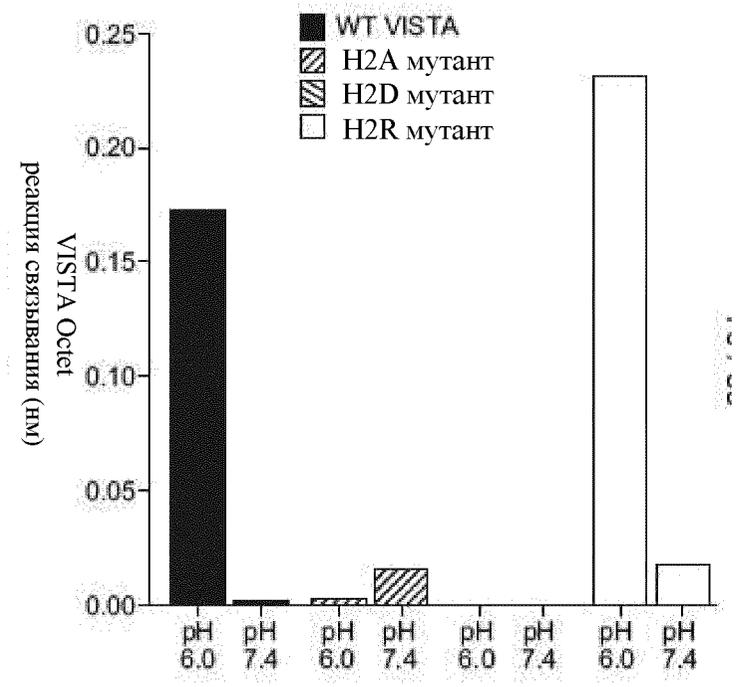
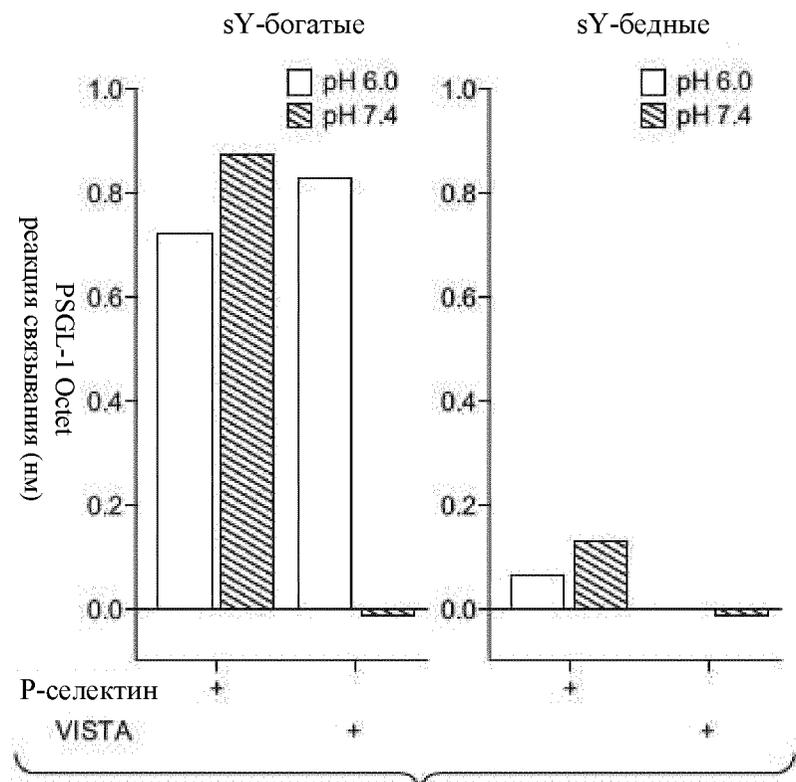
эпитоп В (не блокирующий)

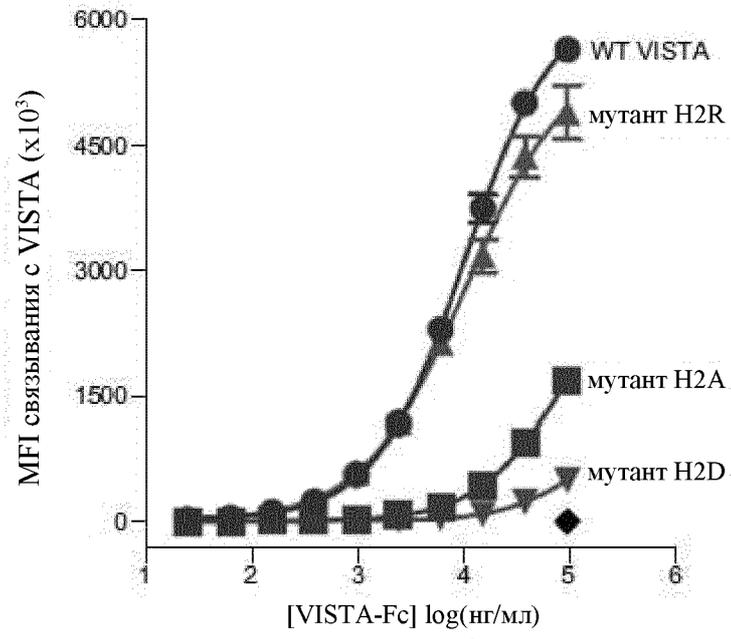


ФИГ. 27Е

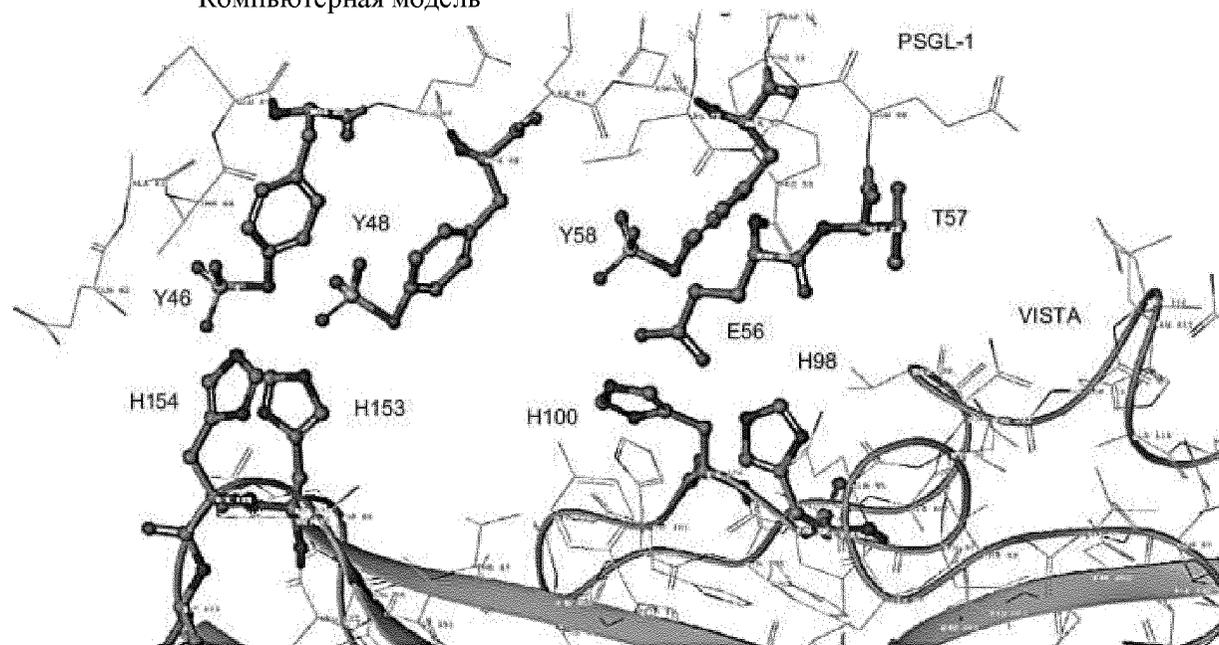


ФИГ. 28А

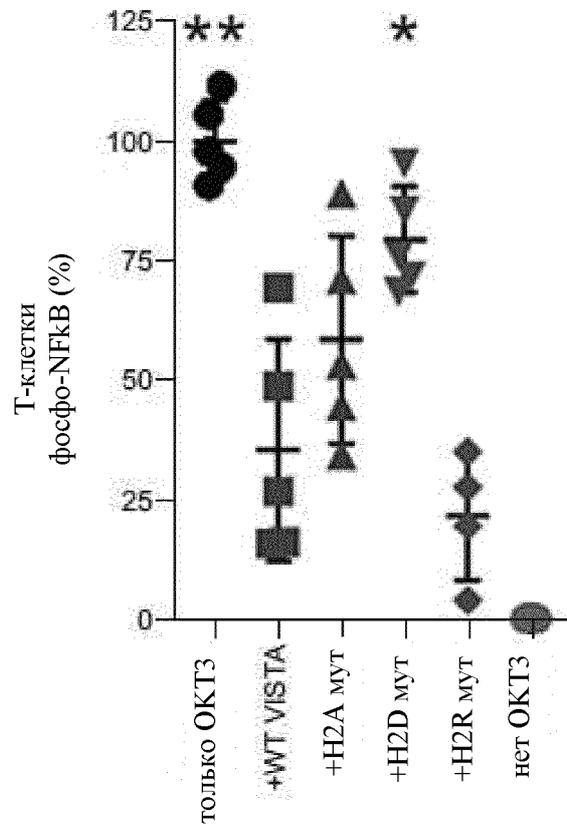


**ФИГ. 28D**

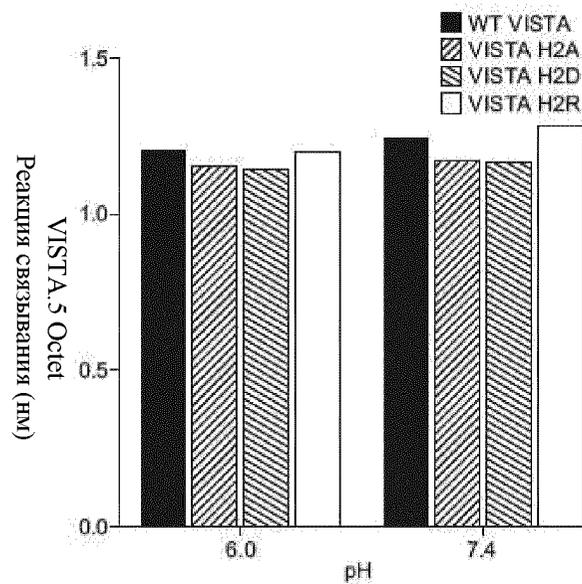
Компьютерная модель



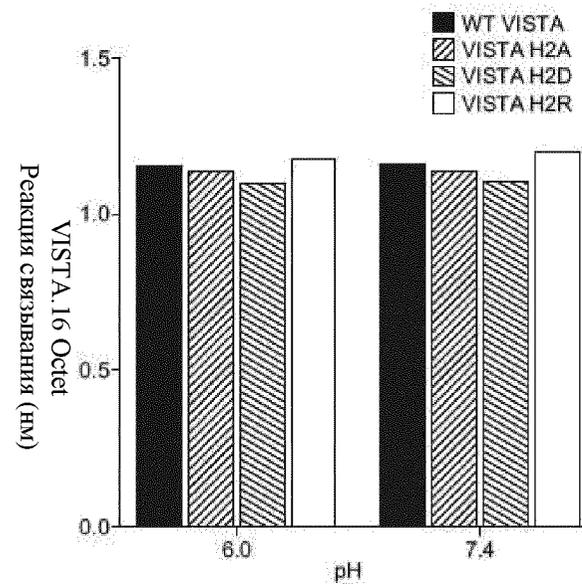
ФИГ. 28E



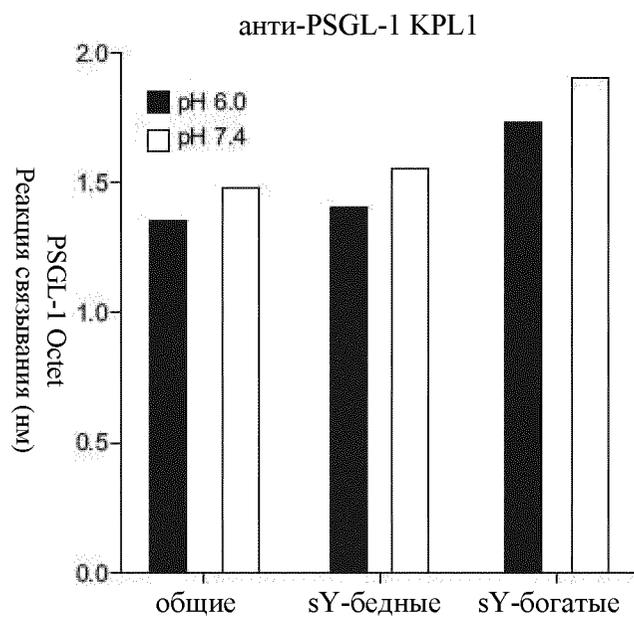
ФИГ. 28F



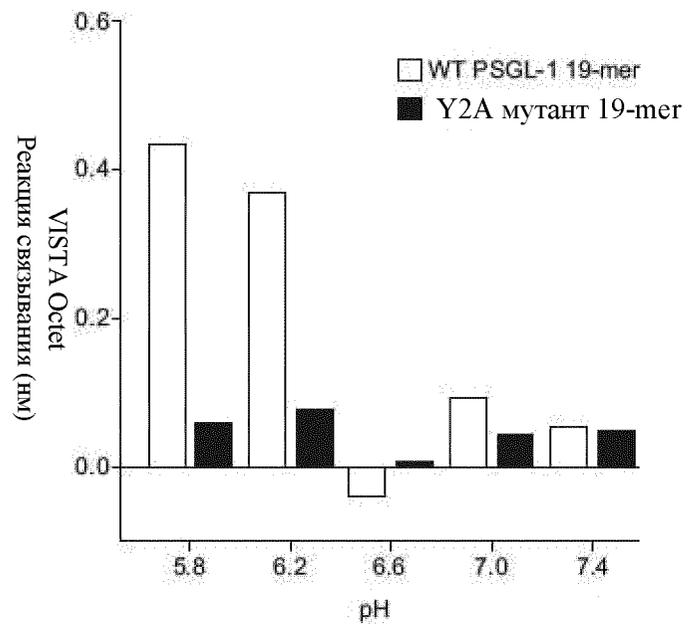
ФИГ. 28G



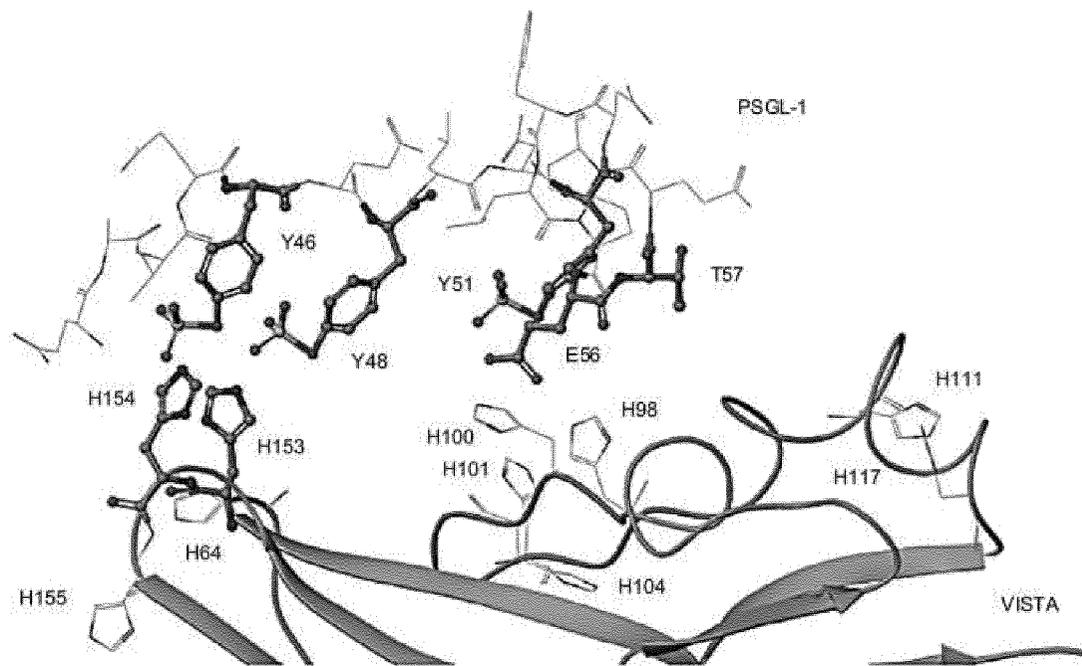
ФИГ. 28H



ФИГ. 28I



ФИГ. 28J



ФИГ. 28К

ID образца	PSGL1 19mer-huFc		VISTA.4		VISTA.5		P1-061029		P1-068761		P1-068767	
	pH 6 реакция (нм)	pH 7.4 реакция (нм)										
R&D huVISTA-hFc	0.19	0.01	1.19	1.35	1.26	1.40	1.26	1.34	1.11	0.52	1.09	0.39
VISTA_Fc	0.21	-0.01	1.56	1.48	1.51	1.53	1.57	1.43	1.25	0.53	1.24	0.39
VISTA_H153A_H154A_H155A_Fc	0.04	-0.02	1.49	1.57	1.46	1.52	1.54	1.49	1.09	0.64	1.04	0.57
VISTA_H153R_H154R_H155R_Fc	0.24	0.09	1.52	1.51	1.50	1.56	1.47	1.51	1.21	1.03	1.23	0.85
VISTA_H153D_H154D_H155D_Fc	0.01	-0.04	1.10	1.37	1.49	1.52	1.47	1.42	0.80	0.22	0.74	0.34
VISTA_H98AH100A_Fc	0.10	-0.05	1.35	1.64	1.57	1.61	1.68	1.71	1.43	0.74	1.39	0.77
VISTA_H98RH100R_Fc	0.22	0.04	1.06	1.53	1.55	1.61	1.65	1.59	1.38	0.47	1.43	0.45
VISTA_H98DH100D_Fc	0.02	-0.03	1.44	1.53	1.46	1.51	1.59	1.51	1.18	0.06	1.23	0.09
VISTA_H98AH100AH153AH154AH155A_Fc	-0.01	-0.03	1.01	1.31	1.55	1.63	1.74	1.72	1.23	0.37	0.83	0.37
VISTA_H98RH100RH153RH154RH155R_Fc	0.24	0.14	0.17	0.24	1.53	1.64	1.62	1.69	1.19	0.66	0.77	0.48
VISTA_H98DH100DH153DH154DH155D_Fc	-0.01	-0.02	0.40	0.79	1.56	1.54	1.49	1.25	0.29	-0.01	0.10	-0.01

ФИГ. 29